

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Andrea Liptáková

Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v kardiovaskulárním systému a signalizaci srdečního selhání

The role of Arachidonic acid metabolites in cardiovascular system and signaling of heart failure

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Konzultant : doc. RNDr. Olga Nováková, CSc.

Praha, 2018

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování RNDr. Jitce Žurmanové Ph.D. a doc. RNDr. Olze Novákové, CSc. za jejich cenné rady, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovaly. Poděkování patří i mé rodině za pomoc a podporu při studiu.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 1.5.2018

Andrea Liptáková

Abstrakt

Kyselina arachidonová (AA), která patří mezi polynenasycené mastné kyseliny, hraje důležitou roli v regulaci fyziologie, bioenergetiky a signálních drah srdce. AA uvolněná z membránových fosfolipidů pomocí zvýšené aktivity fosfolipázy A2 slouží jako substrát pro cyklooxygenázy, lipooxygenázy a cytochrom P450 epoxygenázy. Produktem je široké spektrum lipidových druhých posílů, eikosanoidů. Tito druzí poslové regulují řadu buněčných procesů v kardiovaskulárním systému a změny v jejich složení a koncentraci se významně podílí při srdečním selhání. Cílem této práce bylo shrnout poznatky o úloze AA v selhávajícím srdci.

Klíčová slova : srdce, kyselina arachidonová, srdeční selhání, eikosanoidy, kardiovaskulární systém

Abstract

Arachidonic acid (AA) is polyunsaturated acid that plays an important role in regulation of physiology, bioenergetic and signalling cascades in the heart. AA released by phospholipase A2-catalysed hydrolysis of membrane phospholipids serves as substrate for cyclooxygenase, lipooxygenase and cytochrome P450 epoxygenase to produce a wide spectrum of lipid second messengers, eicosanoids. These very biologically potent molecules regulate a number of cellular processes in the cardiovascular system and changes in their composition and concentration significantly contribute to heart failure. The aim of this thesis was to summarize current knowledge about the role of AA in failing heart.

Keywords : Heart, Arachidonic Acid, Heart Failure, Eicosanoids, Cardiovascular System

Seznam použitých zkratek

Zkratka	Význam
AA	Kyselina arachidonová
ACE	Angiotenzin konvertující enzym
ADP	Adenosindifosfát
AKT	Proteinkináza B
AMI	Akutní infarkt myokardu
AngII	Angiotenzin II
ATP	Adenosintrifosfát
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
CNS	Centrální nervová soustava
COX	Cyklooxygenáza
CYP	Cytochrom
DAG	Diacylglycerol
DiHETE	Dihydroxyeikosatrienová kyselina
EET	Epoxyeikosatrienová kyselina
ET-1	Endotelin-1
FA	Mastná kyselina
FABP	Vazebný protein mastných kyselin
FLAP	Aktivační protein 5-lipoxygenázy
GSK-3 β	Glykogensyntázová kináza 3 β
HETE	Hydroxyeikosatetraenová kyselina
HPETE	Hydroperoxyeikosatetraenová kyselina
HX	Hepoxilin
K _{ATP}	Draslíkový kanál aktivovaný adenosintrifosfátem

K _{Ca} ²⁺	Draslíkový kanál aktivovaný vápenatými ionty
LOX	Lipoxygenáza
LT	Leukotrien
LX	Lipoxan
MCP-1	Chemoatraktivní protein monocytů 1
mPTP	Mitochondriální pór
NA	Noradrenalin
NO	Oxid dusnatý
NSAID	Nesteroidní protizánětlivá droga
PG	Prostaglandin
PGI	Prostacyklin
PIP	Fosfatidylinositolfosfát
PIP2	Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát
PIP3	Fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfát
PKA	Proteinkináza A
PLA	Fosfolipáza A
PLC	Fosfolipáza C
PPAR β	Receptor aktivovaný proliferátory peroxisomů β
PUFA	Polynenasycená mastná kyselina
RAAS	Renin-angiotenzin-aldosteronový systém
ROS	Reaktivní forma kyslíku
sEH	Rozpustná epoxydová hydroláza
SERCa 2a	Vápníková pumpa sarkoplasmatického retikula
SNS	Sympatický nervový systém
SR	Sarkoplasmatické retikulum

TNF α	Tumor nekrotizující faktor α
TRP 4	Vaniloidní receptor typu 4
TX	Tromboxan

Obsah

Seznam použitých zkratk.....	5
Úvod a Cíle.....	9
1.Srdeční selhání	10
1.1.Spolupráce sympatoadrenálního a renin-angiotenzin-aldosteronového systému při srdečním selhání.....	10
1.2.Apoptóza kardiomyocytů	12
2.Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v kardiovaskulárním systému.....	13
2.1.Kyselina arachidonová	13
2.2.Eikosanoidy	14
2.2. Cyklooxygenázová dráha	14
2.2.1. Prostaglandiny	16
2.2.2. Prostacykliny	18
2.2.3. Tromboxany.....	19
2.3. Lipooxygenázová dráha	20
2.3.1. Leukotrieny.....	21
2.3.2. Lipoxiny	21
2.3.3. Hepoxiliny	22
2.4. Dráhy cytochromu P450 epoxygenáz	23
3.Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v signalizaci srdečního selhání	26
3.1.Úloha cytochromu P450 epoxygenázy.....	26
3.2.Buněčná signalizace během srdečního selhání.....	26
3.3.Mitochondrie	26
3.4.EET v selhávajícím srdci.....	28
3.5.Signalizace HETE v selhávajícím srdci	30
3.6.Úloha produktů LOX v selhávajícím srdci	30
3.7.Úloha prostanoidů v selhávajícím srdci	31
Závěr.....	32
Seznam použité literatury	33

Úvod

Srdeční selhání je považováno za epidemické onemocnění, které postihuje 1-2% populace, avšak u pacientů s vysokým věkem prevalence dosahuje až 10% (Haddy, 2003). Nejčastější příčinou srdečního selhání je ischemická choroba srdeční, hypertenze, kardiomyopatie, chlopňové vady, srdeční arytmie a infekční onemocnění. V roce 2015 zemřelo v České republice téměř 51 tisíc osob následkem těchto kardiovaskulárních onemocnění, což bylo příčinou 42 % všech úmrtí u mužů a 50 % u žen (Úzis ČR- Zemřelí2015, n.d.).

Srdeční fosfolipidy slouží jako primární zdroj kyseliny arachidonové, prekursoru eikosanoidů generovaných v drahách cyklooxygenázy, lipooxygenázy a cytochromu P450 epoxygenázy. Bouřlivý rozvoj molekulární biologie v posledních letech umožnil značný pokrok v poznání signálních mechanismů, které se v patogenezi srdečního selhání vyskytují. Vzrůstající počet studií naznačuje že eikosanoidy, a to hlavně metabolity cytochromu P450 epoxygenázy se podílí při nástupu a progresi srdečního selhání. Přínosné nebo škodlivé účinky těchto eikosanoidů závisí na jejich typu a změnách v jejich hladině v srdečních buňkách. Další objasnění jejich role ve fyziologickém a patofyziologickém stavu srdce může poskytnout nové terapeutické cíle v prevenci a léčbě kardiovaskulárních onemocnění.

Cíle

Cílem této bakalářské práce je shrnout poznatky o úloze metabolitů kyseliny arachidonové v kardiovaskulárním systému, jejich významu v signalizaci srdečního selhání a ukázat také na jejich možné využití při prevenci a léčbě tohoto závažného onemocnění.

1. Srdeční selhání

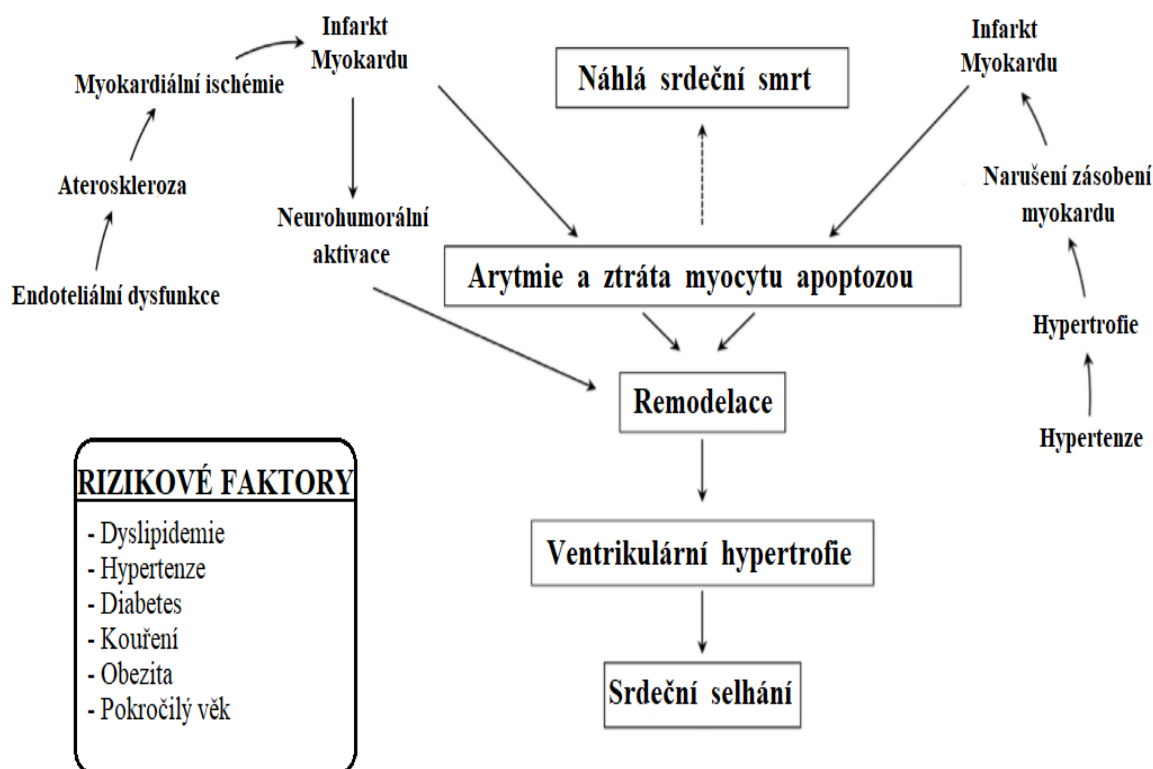
Srdeční selhání je komplexní klinický syndrom, který představuje konečnou fázi kardiovaskulárních onemocnění (Dube et al., 2011). Selhávající srdce nedokáže udržet dostatečný minutový výdej a naplnit tak metabolické potřeby organismu a to buď v klidu nebo při fyzické zátěži (Fletcher et al., 2005).

Ztráta pružnosti cévních stěn způsobená endoteliální dysfunkcí a lipidovými částicemi, která se objevuje i při ateroskleróze nejvíce přispívají k onemocnění koronárních cév (Scott et al., 2004). Ruptura nestabilních aterosklerotických plaků pak může způsobit tvorbu trombů, akutní infarkt myokardu (AMI) vedoucí k srdeční ischemii (Reed et al., 2017). Zhoršení srdeční činnosti po AMI způsobuje rozsáhlou remodelaci srdečních komor včetně tvorby fibrotické jizvy, protože dochází k hromadění myofibroblastů nahrazujících poškozené kardiomyocyty (Frangogiannis et al., 2015). Tím akutní stav přechází na chronický vedoucí až k progresi srdečního selhávání. Srdeční selhávání pak může vést ke vzniku hypertenze a následnému tlakovému přetížení srdce, které vyústí v kompenzační hypertrofii provázenou rozsáhlou remodelací srdečních komor (Rogers et al., 2015). Za těchto podmínek (Obr. 1) dochází k poklesu minutového srdečního výdeje a s ním i k poklesu krevního tlaku. Poklesem krevního tlaku aktivuje tělo mnoho neuro-humorálních kompenzačních systémů jako renin-angiotenzin-aldosteronový systém (RAAS) a sympatický nervový systém (SNS), který zpětně zvyšuje srdeční kontraktilitu na úkor srdce (Fletcher et al., 2005). Tyto systémy jsou mezi sebou velmi úzce propojeny, a tak aktivace jednoho stimuluje systém další. Kromě RAAS a neurohumorální aktivace zahrnuje patofyziologie srdečního selhání také zvýšený oxidační stres a zánětlivý fenotyp některých orgánů (Dube et al., 2011).

1.1. Spolupráce sympatoadrenálního a renin-angiotenzin-aldosteronového systému při srdečním selhání

Renin-angiotenzin-aldosteronový systém je základní regulační složkou kardiovaskulárního systému a jeho aktivita se významně zvyšuje během hypertrofie a srdečního selhání. Důsledkem toho dochází ke změnám krevního tlaku, objemu krve a změnám srdeční a vaskulární struktury. Snížením krevního tlaku a průtoku krve ledvinou dochází ke zvýšené sekreci enzymu reninu z buněk ledvin. Tento enzym s proteolytickou aktivitou pak štěpí angiotenzinogen a zapříčiňuje vzniku dekaeptidu angiotenzinu I, který je dále štěpen pomocí angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE) na oktapeptid angiotenzin II (AngII). Tento hormon pak působí přes receptory AT1 umístěné v celém kardiovaskulárním systému a spouští vazokonstrikci arteriol, zvýšení periferní rezistence krevního oběhu, a tím zvyšuje krevní tlak. Současně tento hormon účinkuje

v centrálním nervovém systému (CNS) tak, že podporuje aktivaci SNS. Zvýšená aktivace SNS se podílí na vazokonstrikci, retenci sodíku a ventrikulární hypertrofii, což předurčuje pacienta k srdečnímu selhání (Eichhorn et al., 1996). K tomu dochází zejména kvůli zvýšenému uvolňování norepinefrinu, což má za následek změny v kontraktilitě kardiomyocytů, jejich hypertrofii a apoptóze. Tyto změny jsou dále umocněny zvýšenou aktivací β -adrenergických receptorů (Unger et al., 2002). Z výzkumu je tedy zřejmé, že poranění srdce jako je infarkt myokardu iniciuje proces komorové remodelace kvůli zvýšenému vystavení norepinefrinu a Ang II (Adams et al., 2004). Léčbou blokátory β -adrenergických receptorů, nebo farmakoterapií zaměřenou na RAAS je možné významně snížit progresivní ventrikulární hypertrofii a v mnoha případech i zlepšit funkci levé komory (Pitt et al., 2001).



Obrázek 1: Schéma vývoje srdečního selhání při patofyziologických stavech kardiovaskulárního systému. Upraveno dle Kim et al., 2015

1.2. Apoptóza kardiomyocytů

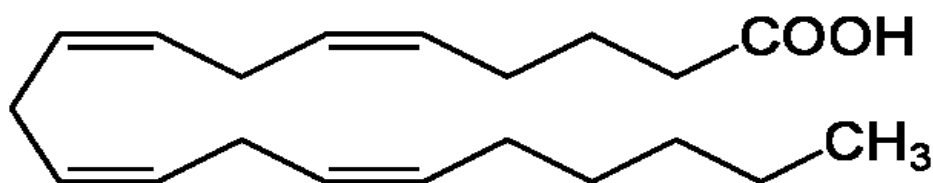
Srdeční selhání je doprovázeno hypertrofií, nekrózou a ztrátou kardiomyocytů způsobenou apoptózou, při které dochází k aktivaci signálních kaskád vedoucích k buněčné smrti. Přestože poškození tkáně při kardiovaskulárním onemocnění bylo připisováno převážně nekróze, současné studie poskytují důkazy o rostoucí úloze apoptózy během ztráty kardiomyocytů, ateroskleróze při vývoji srdečního selhání (Abbate et al., 2003). Apoptóza může být spouštěna řadou faktorů, mezi které patří zánětlivé cytokiny, hypoxie, ischemicko-reperfúzní poškození, dilatace komor myokardu a oxidační stres (Colucci et al., 1996). Současné poznatky také naznačují vznik srdečního selhání na základě apoptózy myocytů spojené s patologickým otevíráním mitochondriálních pórů (mitochondrial Permeability Transition Pore – mPTP) (Moon et al., 2018). Výsledná ztráta myocytů apoptózou nebo nekrózou tak vede k progresi srdečního selhání a může vyústit až smrtí organismu.

Vznik srdečního selhání provázejí patologické změny, ve kterých je zapojena komplexní síť intracelulárních signálních drah. Bylo zjištěno, že klíčovou roli v těchto adaptivních změnách hrají polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), zejména kyselina arachidonová. Pochopení mechanismu těchto změn může v budoucnu přispět k prevenci a léčbě tohoto závažného kardiovaskulárního onemocnění.

2. Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v kardiovaskulárním systému

2.1. Kyselina arachidonová

Kyselina arachidonová (AA, 20:4n-6) je polynenasycená mastná kyselina (PUFA) s dvaceti uhlíky a čtyřmi dvojnými vazbami v polohách 5-, 8-, 11- a 14-, pocházející ze třídy n-6 PUFA (Obr. 2). AA je velmi významnou složkou v membránových fosfolipidech, kde v srdci představuje až 20% FA ve fosfolipidech. Přímým zdrojem AA v potravě je maso a živočišné tuky a v našem těle je jejím prekurzorem esenciální mastná kyselina (FA) linolová (18:2n-6), kterou přijímáme v potravě, především v rostlinných olejích (Hughes-Fulford et al., 2005). Neschopnost syntézy kyseliny linolové *de novo* u savců je dána absencí $\Delta 12$ a $\Delta 15$ desaturáz.



Obrázek 2 : Struktura kyseliny arachidonové

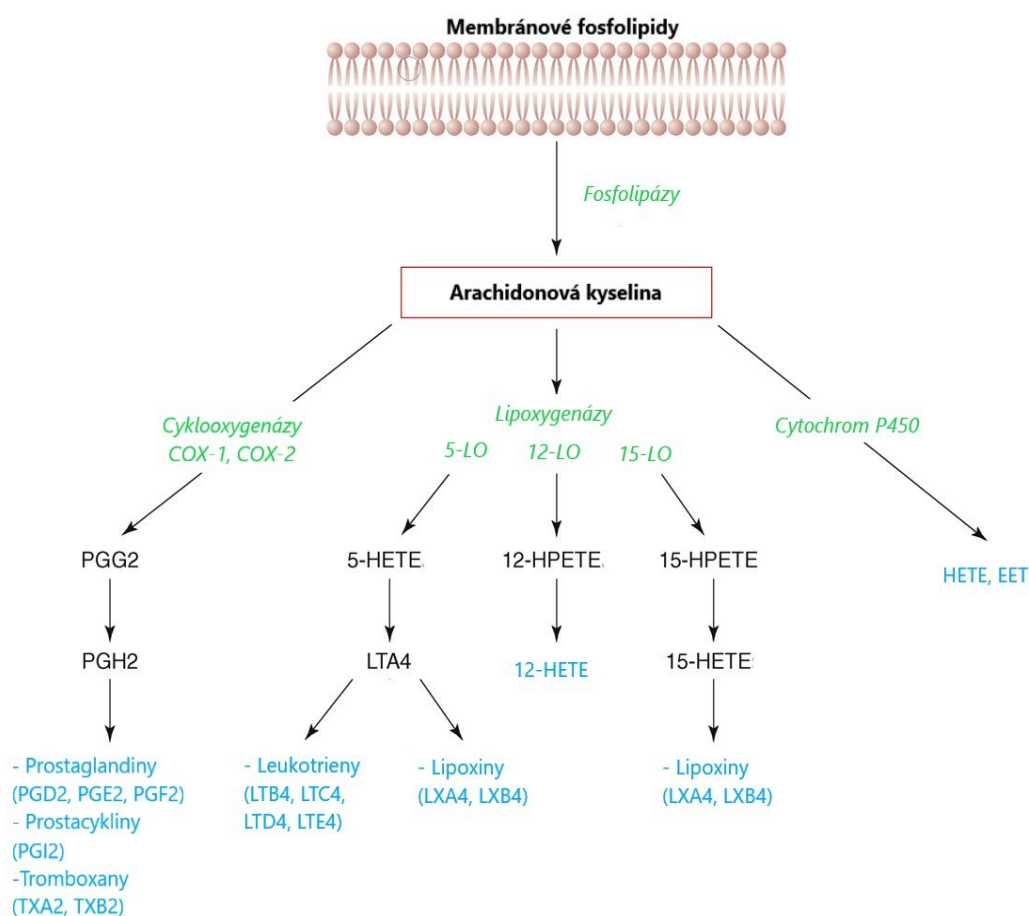
AA je z polohy sn2 molekuly fosfolipidu hydrolyzovaná pomocí fosfolipázy A₂ (PLA₂), nebo aktivací fosfolipázy C (PLC) a následnou hydrolýzou pomocí lipázy z diacylglycerolu (DAG). V myokardu převládá na vápníku nezávislá fosfolipáza PLA₂β (iPLAβ) (Jenkins et al., 2009). Kromě ní hraje také významnou roli na vápníku závislá cytosolická PLA₂α. Aktivací PLA₂ zvýšenou intracelulární koncentrací vápenatých iontů v cytoplasmě dojde k její fosforylaci a translokaci na membránu, kde následuje uvolnění arachidonátu z membránových fosfolipidů (Stenson et al., 1979). Tato reakce je rychlost limitujícím krokem při tvorbě eikosanoidů v myokardu. Kromě této cesty může AA vznikat i z DAG, jak bylo zmíněno výše. Biologický význam kyseliny arachidonové spočívá v tom, že může být sama signální molekulou, ale také prekurzorem eikosanoidů, složitých sloučenin s řadou fyziologických funkcí.

Protizánětlivými steroidy jako je například kortizol, je možné inhibovat uvolnění arachidonátu fosfolipázou, a tím dochází i k inhibici vzniku eikosanoidů.

2.2. Eikosanoidy

Termín eikosanoidy se souhrnně používá pro deriváty polynenasycených mastných kyselin s 20 uhlíky v řetězci (Jenkins et al., 2009). Jak už bylo řečeno, jejich hlavním prekurzorem je AA. Jsou to fyziologicky aktivní látky, působící jako lokální hormony, které jsou agonisty receptorů, spřažených s G- proteiny.

Eikosanoidy jsou z AA syntetizovány ve třech hlavních biosyntetických drahách, kde první krok katalyzují enzymy cyklooxygenáza , lipoxigenáza a cytochrom P450 epoxigenáza (Obr.3).



Obrázek 3 : Schéma syntézy eikosanoidů z arachidonové kyseliny (AA) hydrolyzované z membránových fosfolipidů pomocí fosfolipáz. Takto uvolněná AA je metabolizována 3 hlavními cestami: Cyklooxygenázovou (COX), lipoxigenázovou (LO) a cestou cytochromu P450 epoxigenázy na prostanoidy (prostaglandiny- PGX a tromboxany -TX) a další eikosanoidy odvozené od AA jako jsou Leukotrieny (LT) a Lipoxyny kyseliny hydroxyeikosatetraenové (HETE), hydroperoxytetraenové (HPETE) a epoxyeikosatrienové (EET). Upraveno dle: Harizi et al., 2008.

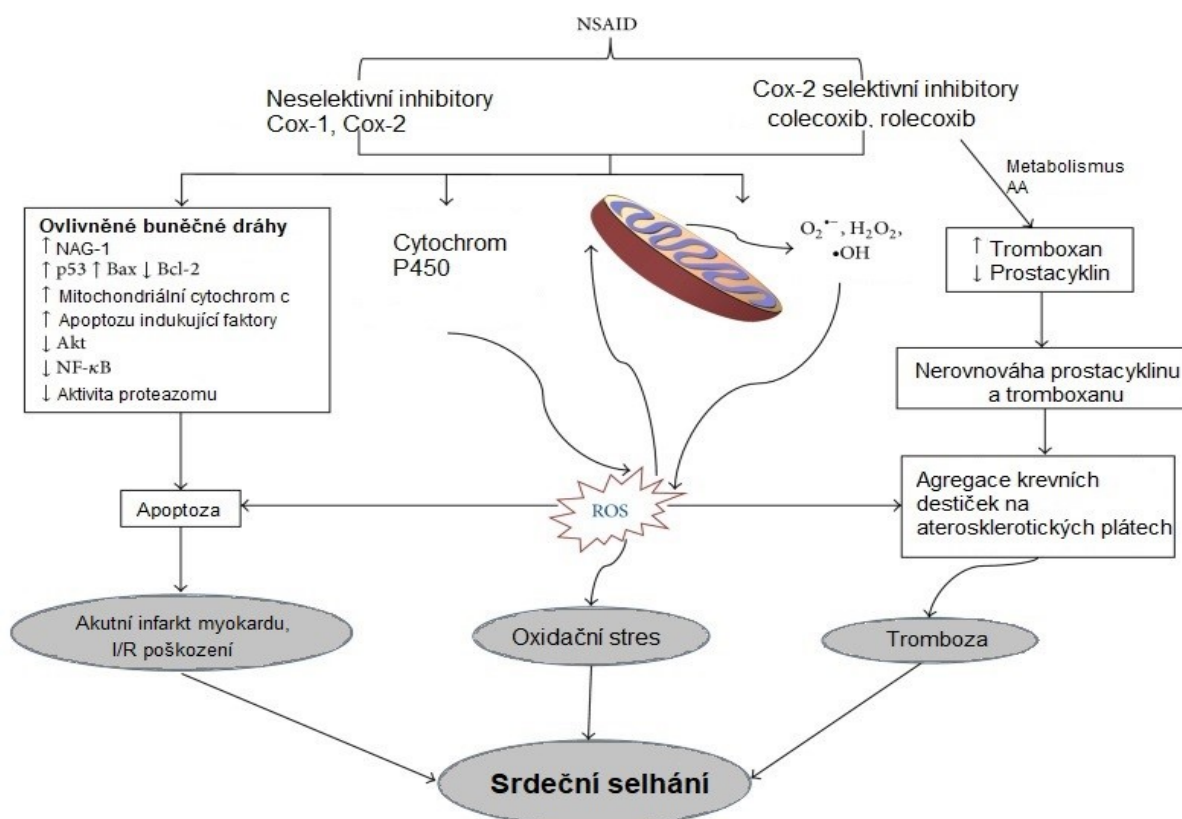
2.2. Cyklooxygenázová dráha

Cyklooxygenáza (COX), neboli prostaglandin G/H syntáza 1, je hem obsahující enzym s cyklooxygenázovou a peroxidázovou aktivitou nacházející se na vnitřní straně

endoplasmatického retikula a jaderné membráně. Adicí molekuly O_2 do arachidonátu dává vzniku endoperoxidu PGH, který je dále přeměněn na prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany (Obr 6). Tyto produkty bývají souhrnně nazývány prostanoidy a v současné době je popsáno mnoho účinků prostanoidů generovaných v myokardu.

V srdečním svalu se COX vyskytuje jako dvě izoformy a to COX-1 a COX-2 lišící se funkcí, lokalizací v buňce a strukturálně v aktivním místě enzymu. COX-1 je konstitutivně exprimována v srdečních buňkách za účelem udržení normální srdeční homeostázy (Zidar et al., 2009), zatímco činnost COX-2 je indukovaná patofyziologickými stavy. COX-2 tedy může sloužit jako mediátor zánětlivých odpovědí vedoucích k srdeční fibróze (Zhang et al., 2003).

Cyklooxygenázovou aktivitu je možné inhibovat na několika úrovních, kromě steroidní inhibice, která byla zmíněna výše, lze využít i nesteroidní inhibice pomocí neselektivních nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID -Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs) např. aspirin, indomethacin a selektivních COX-2 inhibitorů, např. rofecoxib, celecoxib a meloxicam (Obr.4). U většiny NSAID dochází k irreverzibilní inhibici aktivity COX obou izoform enzymu. Vývoj selektivních inhibitorů COX-2 byl prováděn na základě zjištění, že inhibují syntézu prozánětlivého prostaglandinu E_2 (Chen et al., 2013), nicméně placebem kontrolovaná studie ukázala, že tyto léky predisponují pacienty ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění jako je hypertenze, infarkt myokardu či mrtvice (Arehart et al., 2008). Tyto škodlivé účinky inhibice COX-2 jsou dány snížením syntézy vazodilatačního prostacyklinu, aniž by došlo ke snížení tvorby protrombotického tromboxanu. (Grosser et al., 2006; Colin et al., 2007), tím dochází ke zvýšení pravděpodobnosti protrombotických příhod a hypertenze, zejména u pacientů se zvýšenými kardiovaskulárními riziky (Yu et al., 2012).



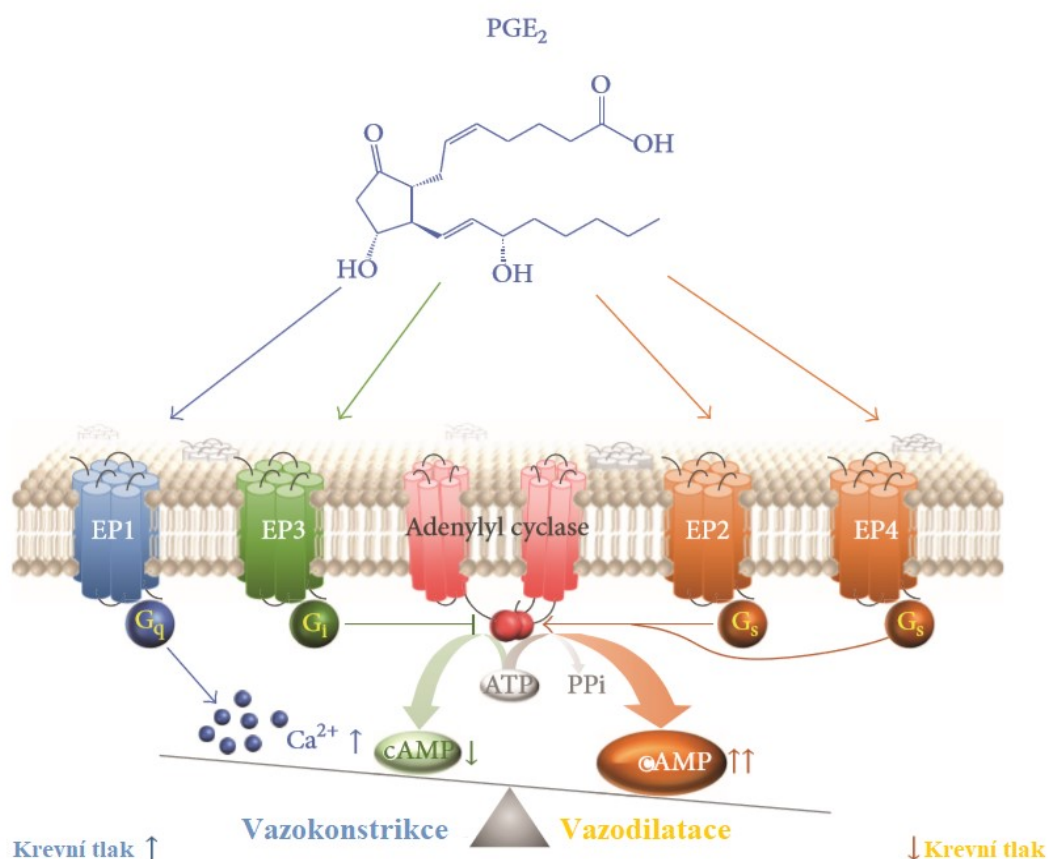
Obrázek 4 : Schéma znázorňuje různé dráhy podílející se na vývoji srdečního selhání pomocí nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID) ; upraveno podle Ghosh et al., 2015.

2.2.1. Prostaglandiny

Termín prostaglandiny (PG) zavedl švédský fyziolog Ulf von Euler ve 30. letech 20. století pro sloučeninu přítomnou ve spermatu, která způsobovala kontrakci hladké svaloviny dělohy. Předpokládal tedy, že do spermatu je sekretována prostatou. Až později bylo dokázáno, že skutečným producentem PG jsou semenné vajíčky. Dalšími výzkumy probíhajícími v 60. letech bylo stanoveno, že jde o deriváty PUFA a bylo popsáno několik odlišných typů prostaglandinů s jejich různými biologickými účinky. Za tento objev byla v roce 1982 udělena B. Samuelssonovi, J. Fandovi a S. Bergstromovi Nobelova cena za lékařství.

PG jsou syntetizovány z PUFA s dvacetihlíkatým řetězcem, obsahujícím cyklopentanový kruh, podle jehož konfigurace můžeme PG řadit do základních skupin: PGE₂, PGI₂, PGD₂ a PGF_{2α}. Při syntéze PG z AA pomocí izoforem COX-1 a COX-2 dochází nejdříve k biosyntéze PGH₂ (Nithipatikom et al., 2002), prvního intermediátu PG kaskády, který je dále řadou terminálních PG syntáz konvertován na autakoidní PG. Jejich parakrinní působení je dáno navázáním na serpentinové receptory spřažené s G-proteiny, čímž dochází k aktivaci cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) a nebo PLC a spuštění buněčné odpovědi (Sugimoto et al., 2007). PGF_{2α} je produkován jak COX-1, tak COX-2 a podílí se na tvorbě zánětu a aktivuje

signální dráhy $\text{PGF}_{2\alpha}$ receptorem (spřaženým s G_q) při hypertrofické odpovědi myokardu (Kunapuli et al., 1998). PGD_2 je znám jako produkt makrofágů, avšak je v menším množství syntetizován i trombocyty. Jeho vazbou na destičkové receptory DP1 se zvyšuje aktivita adenylcyklázy a podobně jako prostacyklin omezuje aktivaci destiček (Bushfield et al., 1987). Dalším důležitým lipidovým mediátorem, který se podílí na kardiovaskulárním tonu a regulaci krevního tlaku je PGE_2 působící přes čtyři specifické receptory spřažené s G-proteiny (EP1-EP4). Bylo prokázáno, že PGE_2 působí jako vazodilatační nebo vazokonstriční látka v závislosti na jeho koncentraci a vazbě na odlišné EP receptory (Obr. 5) (Petrucci et al., 2011; Glenn, et al., 2012). Při nízkých koncentracích (0,1 až $10\mu\text{M/l}$) se PGE_2 váže na EP1 a EP3 receptory spřažené s G_i . Tato vazba snižuje hladinu cAMP a tím podporuje vazokonstrikci zvýšením intracelulární hladiny Ca^{2+} , zatím co vysoká koncentrace PGE_2 ($100\mu\text{M/l}$) indukuje vazbu na receptory EP2 a EP4, kde zvýšení hladiny cAMP vede k vazodilataci (Glenn et al., 2012). Funkční rovnováha takto aktivovaných receptorů hraje důležitou roli při udržování normálního krevního tlaku, zatím co nerovnováha může být rizikovým faktorem pro rozvoj hypertenze (Zhang et al., 2003).



Obrázek 5 : Funkce receptorů pro prostaglandiny (EP) při regulaci krevního tlaku. Prostaglandin E_2 (PGE_2) zvyšující vaskulární ton a tím i krevní tlak prostřednictvím EP1 a EP3 receptory vyvolanou inhibicí syntézy cyklického adenosin monofosfátu (cAMP) zvyšující intracelulární hladinu Ca^{2+} . Naopak receptory EP2 a EP4 zprostředkovaná aktivace adenyllyl cyklázy a syntéza cAMP snižuje krevní tlak. Upraveno dle Yang et al., 2016.

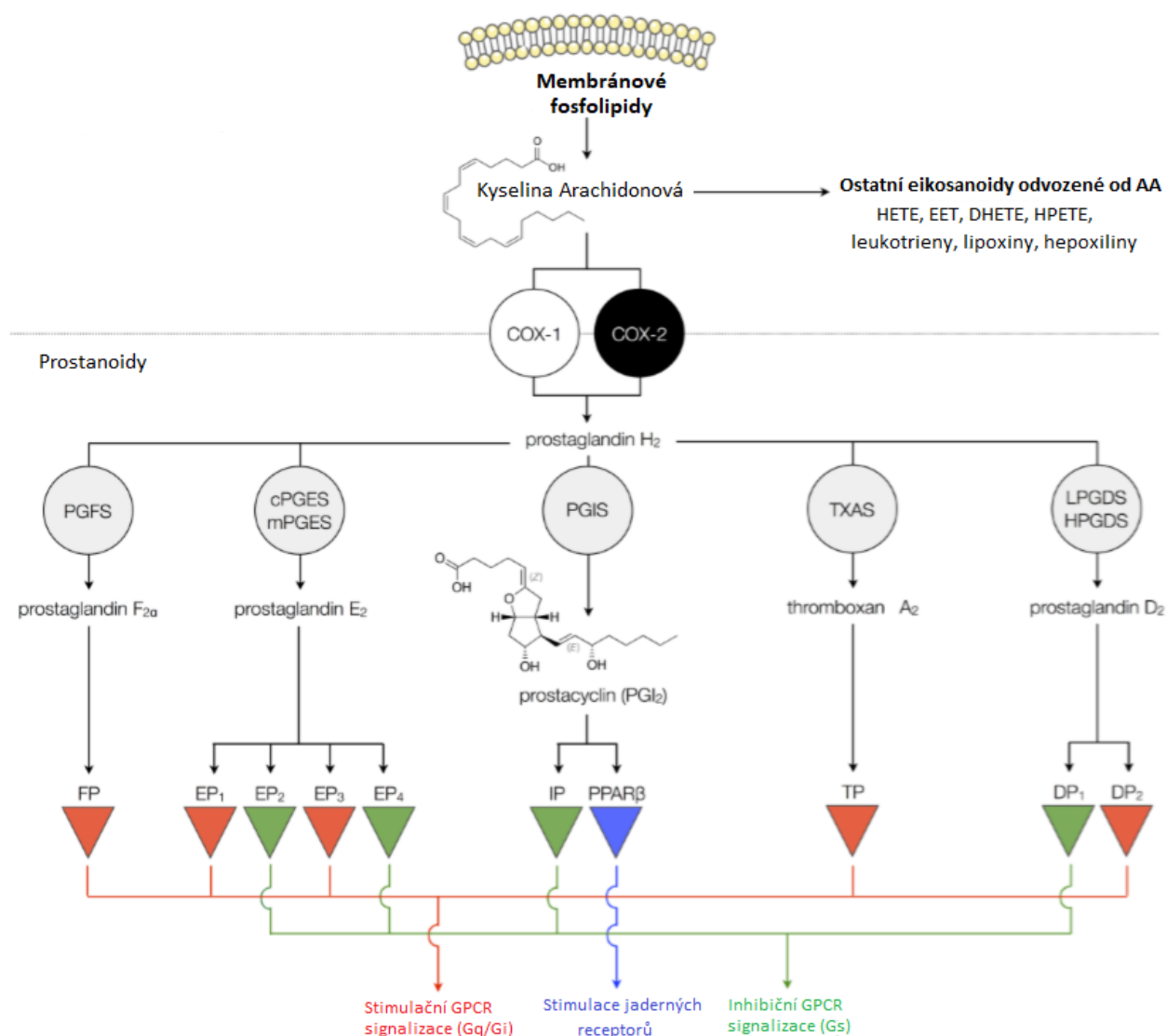
2.2.2. Prostacykliny

Prostacyklin (PGI_2), který je hlavním produktem metabolismu AA krevních cév vzniká za katalýzy prostacyklin syntázy z cyklických endoperoxidů, produktů COX-2. PGI_2 obsahuje dva cyklopentanové kruhy z nichž jeden je přerušen atomem kyslíku. Signalizace prostacyklinů je komplexní s využitím různých typů receptorů a transdukčních cest (Obr 6). Funkční význam prostacyklinu spočívá v inhibici agregace a adheze krevních destiček a vyvolání vazodilatace, z čehož vyplývá funkční antagonismus s tromboxanem TXA_2 při tvorbě krevního trombu a regulaci krevního průtoku cévou. PGI_2 působí primárně na dva receptory, na membráně lokalizovaný IP receptor spážený s G-proteiny a na jaderný receptor aktivovaný proliferátory peroxisomů (PPAR β) (Ali et al., 2006). Navíc může PGI_2 působit na jiné prostanoidní receptory a tím vyvolávat synergické nebo protichůdné účinky (Liu et al., 2012). Aktivací těchto receptorů pak dojde k aktivaci adenyllylcyklázy vázané na membránu, která stimuluje proteinkinázu A (PKA) zvýšenou koncentrací intracelulární signální molekuly cAMP. Aktivace

PKA vede k fosforylaci substrátových proteinů , včetně těch, které regulují intracelulární hladinu vápníku (Shabb et al., 2001), jejíž zvýšení umožňuje kontrakci hladké svaloviny cév, nebo agregaci destiček. Snížení intracelulární hladiny vápníku má PGI₂ antitrombotické a vazodilatační účinky (Kelton et al., 1980).

2.2.3. Tromboxany

Nejdůležitějším prostanoidem pro funkci trombocytů je tromboxan A₂ (TXA₂), který je generovaný COX-1 a enzymem tromboxan syntázou. Tromboxany byly nejdříve popsány jako kontrakční substance v aortě králíků (Vane et al., 1971) a až pozdější výzkumy ukázaly, syntézu TXA₂ krevními destičkami a jeho autokrinní a parakrinní působení k indukci trombózy (Smith et al., 1971). TXA₂ se tak váže na membránový receptor destiček, též označovaný jako TP receptor spřažený s G-proteiny, což vede ke změně tvaru destičky, fosforylaci lehkého myozinového řetězce, uvolňování granulí a iniciaci nevratné agregace destiček (Smyth et al., 2010). Za těchto podmínek dochází k tvorbě dalších molekul TXA₂ pozitivní zpětnou vazbou. Navíc TXA₂ uvolňovaný v místě poškození cévní stěny podporuje kromě agregace trombocytů i lokální vazokonstrikci a tím vznik krevní sraženiny (Pradono et al., 2002).



Obrázek 6: Kyselina arachidonová uvolněná z membránových fosfolipidů poskytuje substrát pro řadu prostanoidů formovaných enzymy cyklooxygenázou 1 a 2 (COX-1, COX-2). Každý prostanoid působí na různé receptory spřažené s G-proteiny, nebo jaderným PPARβ receptorem zprostředkovávající stimulační či inhibiční buněčné odpovědi. Upraveno dle Mitchell et al., 2018.

2.3. Lipooxygenázová dráha

Vedle COX, může být AA být metabolizována pomocí enzymu lipooxygenázy (LOX), která zavádí kyslík do polohy 5-,12- nebo 15- uhlíkatého řetězce AA za vzniku nestabilních hydroperoxyeikosatetraenových kyselin (HPETE), které mohou být dále redukovány pomocí glutathion peroxidázy na hydroxyeikosatetraenové kyseliny HETE. Na rozdíl od prostanoidů neobsahují metabolity lipooxygenázové dráhy cyklopentanový kruh, zato jejich struktura obsahuje 3 konjugované dvojné vazby (Yamamoto et al., 1992). Tyto vazby daly jméno hlavním metabolitům této dráhy, leukotrienům (LT), spojením slov trien a leukocyty, kde se

LT nejčastěji tvoří. Kromě leukotrienů lze ještě produkty 15-lipoxygenázy metabolizovat na lipoxiny, podobně jako produkty 12-lipoxygenázy na hepoxiliny.

Aktivita LOX byla detekována v subcelulárních frakcích potkaních srdcí a kultivovaných myocytech (Breitbart et al., 1996), kde majoritní podíl metabolitů LOX je dán aktivitou izoformy 12-LOX.

2.3.1. Leukotrieny

Leukotrieny (LT) tvoří skupinu derivátů 5-HPETE vznikajících účinkem 5-lipoxygenázy (5-LO) z AA, která je uvolněna z fosfolipidů působením PLA₂ podobně jako při syntéze prostanoidů. K aktivaci cytoplazmatické 5-LO je potřeba aktivační protein 5-lipoxygenázy (FLAP), zprostředkovávajícího interakce mezi AA a 5-LO (Obr. 7) (Haeggstroem et al., 2000). K syntéze LT dochází zejména v leukocytech, mastocytech, makrofázích, které se v kardiovaskulárním systému podílejí na zánětu spojeném se srdečním selháním, zvyšování vaskulární permeability a vývoji aterosklerózy (Kayama et al., 2009).

2.3.2. Lipoxiny

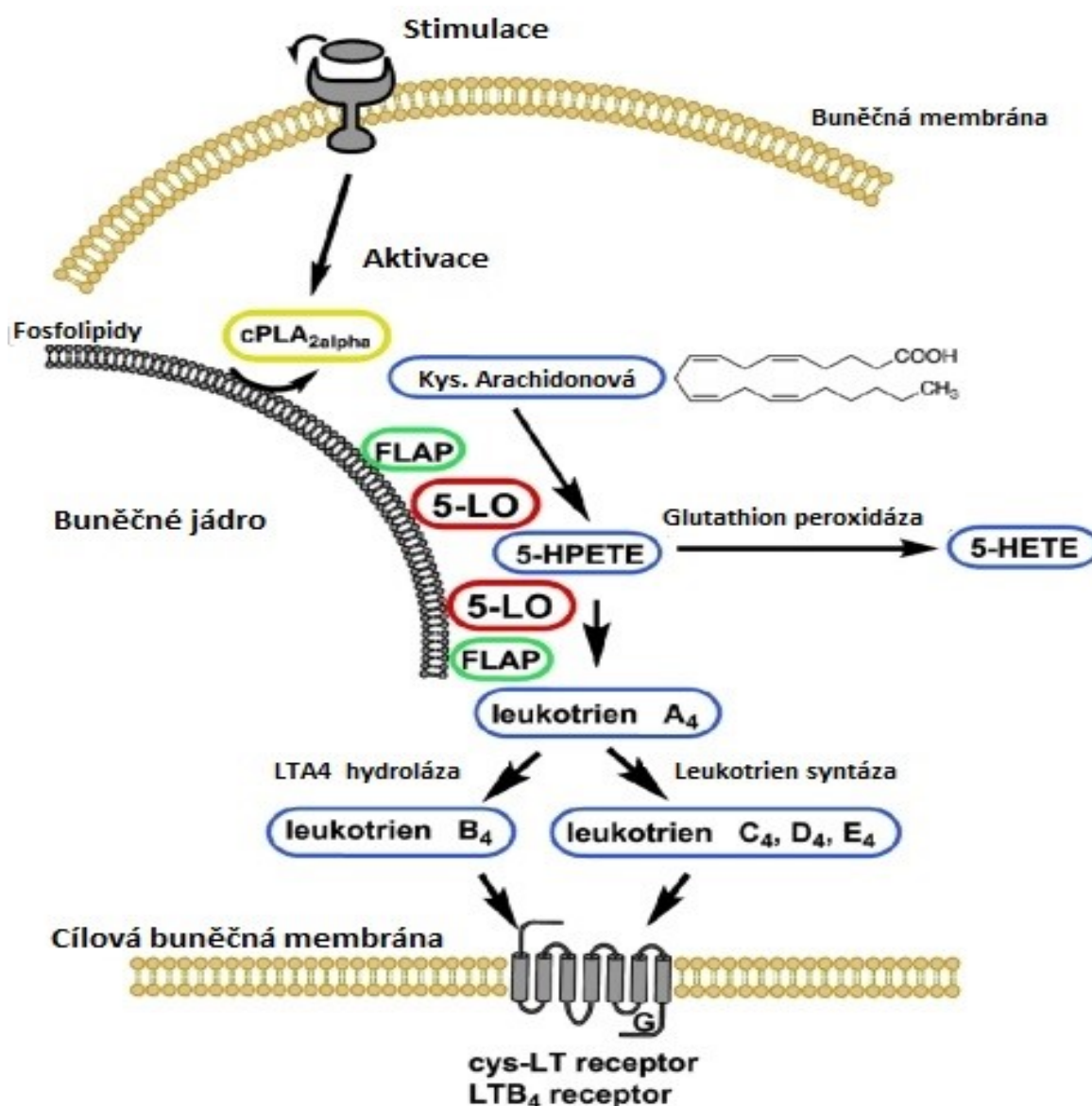
Další skupinou fyziologicky aktivních metabolitů lipoxygenázové cesty se čtyřmi konjugovanými dvojnými vazbami jsou lipoxiny (LX), produkované neutrofily a makrofágy. (Serhan et al., 2002). Na syntéze LX se podílejí jak 5-LO, tak i 12-LO a 15-LO.

Syntéza LX z AA je možná dvěma hlavními cestami. Při první, dochází v krevních destičkách k formaci LTA₄, který je dále převeden 12-LO na lipoxin (Serhan et al., 1999). Další možnou cestou syntézy LX je převedení kyseliny AA na 15-hydroperoxyeikosatetraenovou kyselinu (15-HPETE), která je dále transformována na lipoxin A a lipoxin B 5-LO v neutrofilech nebo 15-LO v erytrocytech a retikulocytech (Nigam et al., 1990). Dále je možná za přítomnosti aspirinu tvorba lipoxinu ATL (Aspirin-Triggered Lipoxin). Při použití aspirinu dojde k acetylaci COX a formaci 15R-hydroxyeikosatetraenové kyseliny, která je dále metabolizována 5-LO za vzniku ATL (Gilroy et al., 2005)

Fyziologický dopad účinku lipoxinů spočívá v jejich roli při imunitní odpovědi organismu na infekci, kdy pomáhají v migraci neutrofilů endotelem zvýšením koncentrace jejich cytosolického vápníku, a tím vyvolávají přestavění cytoskeletárních prvků a rozšíření pseudopodů (Dixit et al., 2012).

2.3.3. Hepoxiliny

Hepoxiliny (HX) jsou chemicky velmi nestabilní sloučeniny vznikající z 12S-hydroperoxyeikosatetraenové kyseliny (12S-HPETE) a její další redukcí pomocí 12-LOX/hepoxilin syntázy v krevních destičkách a aortě. Takto vzniklé hepoxiliny A₃ a B₃ mají značnou intracelulární aktivitu spojenou s mobilizací vápníku a draslíku (Pace-Asciak et al., 1994).



Obrázek 7: Schématické znázornění biosyntézy leukotrienů enzymem lipoxigenázou (5-LO) a proteinem FLAP. Aktivovaná fosfolipáza cPLA₂ hydrolyzuje arachidonovou kyselinu (AA) z fosfolipidu a slouží jako substrát pro syntézu leukotrienů přes meziprodukt 5-hydroperoxyeikosatetraenovou kyselinu (5-HPETE). Upraveno dle Steinhilber et al., 2010.

2.4. Dráha cytochromu P450 epoxigenázy

Cytochromy P450 (CYP 450) jsou enzymy obsahující porfyrinový skelet s atomem železa v aktivním místě enzymu, jehož přechodem mezi stavy $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ dochází k oxidačně redukčním reakcím. Myokardiální CYP metabolizuje AA za spoluúčasti O_2 , NADPH a CYP reduktázy, která se nachází na endoplasmatickém retikulu. CYP 450 se vyskytují v různých izoformách, které jsou řazeny do genetických rodin a podrodin dle míry homologie jejich primární struktury. V současnosti je popsáno na 500 izoenzymů, řazených do 74 rodin (Zhang et al., 2009), kdy převládající izoformy CYP epoxigenáz v srdci jsou členy rodin CYP 2C, CYP2B a CYP 2J (Zhang et al., 2008), zatímco u CYP ω -hydroxyláz převládají CYP4A a CYP 4F (Fan et al., 2016). Rozdíly v expresi a aktivitě specifických enzymů CYP mohou změnit citlivou rovnováhu mezi epoxyeikosatrienovými a hydroxyeikosatetraenovými kyselinami.

Enzymem CYP 450 epoxigenázou dochází ke konverzi AA na čtyři různé regioizomery epoxyeikosatrienové kyseliny (EET) a to: 5,6-, 8,9-, 11,12- a 14,15-EET, pocházejících z dvojných vazeb AA. Každý regioizomer tak představuje dva izomery EET, protože epoxydová skupina se může připojit ke každé dvojné vazbě v odlišných konfiguracích, dávajících vznik R/S a S/R enantiomerům každého EET regioizomeru. EET mohou být dále rychle metabolizovány rozpustnými epoxidovými (sEH) nebo mikrosomálními (mEH) hydrolázami na biologicky méně aktivní dihydroxyeikosatrienové kyseliny (DiHETE) (Fang et al., 2004). Metabolizmus EET pomocí sEH je vysoce selektivní, přičemž preferovaný substrát je 14,15-EET, zatímco hydratace 11,12-EET a 8,9-EET probíhá při výrazně nižších rychlostech (Zeldin et al., 1993) a tak se inhibitory sEH mají velký terapeutický potenciál při léčbě kardiovaskulárních onemocnění (Fang et al., 1996).

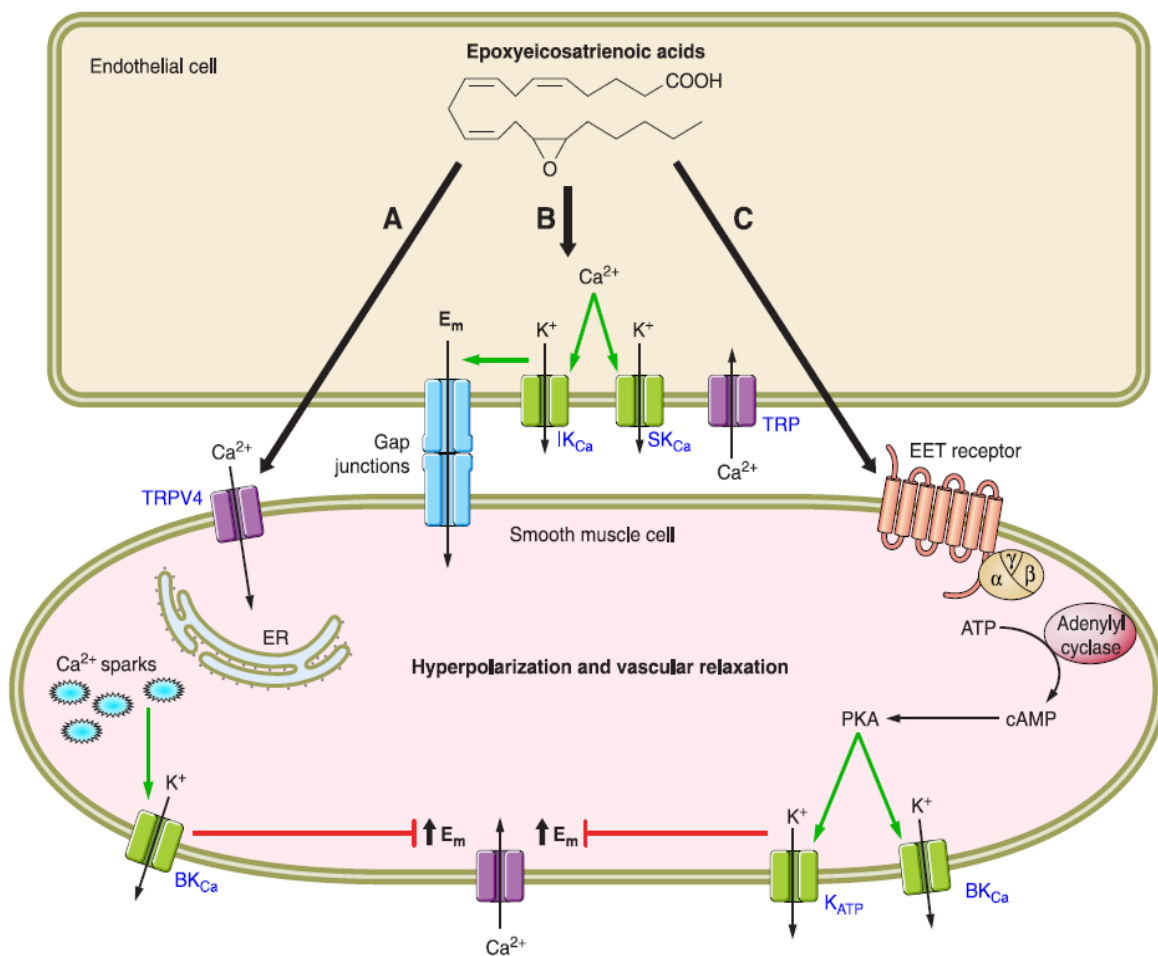
EET pak zprostředkovávají řadu buněčných odpovědí skrze iontové kanály nebo plní úlohu druhých posílů při buněčné signalizaci, a tím se přímo podílí na udržování kardiovaskulárního zdraví včetně regulace kardiovaskulárního tonu, objemu extracelulární tekutiny a kontraktility srdce.

EET jsou převážně lokalizovány v buněčné membráně v poloze sn-2 fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu a fosfatidyletanolaminu (Spector et al., 2004). EET tak představují 0,01% všech mastných acylových řetězců ve fosfolipidech, odkud jsou hydrolyzovány pomocí specifických fosfolipáz. V cytosolu se EET vážou na protein FABP (Fatty Acid Binding Protein), který pak působí jako transportní protein pro EET a dopraví je do organel (Widstrom et al., 2003). Na rozdíl od EET, dochází k vazbě jejich metabolitů DiHETE na membránu, nebo

FABP v mnohem menším množství (Spector et al., 2004) což by mohlo vysvětlovat uvolňování DiHETE do extracelulární tekutiny.

EET jsou důležitým faktorem uvolňovaným endoteliárními buňkami (EDHF- Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor), vyvolávající vazodilataci v odpovědi na acetylcholin a bradykinin (Wang et al., 2003), což je způsobeno hyperpolarizací membrány buněk hladké svaloviny cév zvyšováním pravděpodobnosti otevření Ca^{2+} aktivovaných K^{+} kanálů (K_{Ca}) (Yang et al., 2005). Další studie pak dokazují příspěvek ATP aktivovaných draslíkových kanálů (K_{ATP}) při vazodilataci (Obr. 8). Tato signální kaskáda se zdá být spojena s G-proteinem stimulujícím produkci cAMP aktivací adenylylcyklázy podjednotkou $\text{G}\alpha$. Zvýšená hladina cAMP pak dále aktivuje PKA (Lu et al., 2006) k indukci fosforylace K_{Ca} a K_{ATP} podporujících vazodilataci (Li et al., 1997). EET také zvyšují intracelulární hladiny vápníku hladké svaloviny cév aktivací vaniloidního receptoru typu 4 (TRP4). Vstup vápníku těmito kanály aktivuje ryanodinové receptory sarkoplasmatického retikula vedoucí k uvolnění vápníku ze zásob a aktivaci K_{Ca} kanálů (Watanabe et al., 2003). TRP4 kanály tak přispívají k vazodilataci hladké svaloviny cév zprostředkované EET.

Koronární arterie se rozšiřují v odpovědi na všechny čtyři regioizomery EET (Larsen et al., 2006) a s nižší účinností i na DiHETE (Roman et al., 2002). Tato vasodilatace je regulována sEH přítomnou v endotelových buňkách. Bylo prokázáno, že nadměrná exprese EET CYP2J v srdci vedla ke zlepšení obnovení krevního tlaku levé komory po infarktu myokardu, zatím co podání inhibitorů CYP2J ruší kardioprotektivní účinek. Vedle vazoaktivních vlastností mají EET také silné protizánětlivé a antitrombotické účinky.



Obrázek 8: Schématické znázornění epoxyeikosatrienových kyselin (EET) zprostředkované vazodilatace A: aktivací vaniloidního receptoru typu 4 (TRPV4); B: aktivací receptoru přechodného potenciálu (TRP), C: stimulací produkce cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) vedoucí k aktivaci protein kinázy A (PKA) vedoucí k fosforylaci ATP aktivovaných K^+ kanálů (K_{ATP}) a Ca^{2+} aktivovaných K^+ kanálů (BK_{Ca}). Převzato z Imig et al., 2012.

Izoenzymy rodin 4A a 4F enzymů CYP ω -hydrolázy hydroxylují terminální metylovou skupinu AA za vzniku 20-hydroxyeikosatetraenových kyselin (20-HETE) a minoritního množství 19-hydroxyeikosatetraenových kyselin (19-HETE), které se vyskytují v R- nebo S- enantiomerech (Konkel et al., 2011). Na rozdíl od EET, 20-HETE je považována za silný prozánětlivý mediátor a vazokonstriktor skrz inhibici Ca^{2+} senzitivních K^+ kanálů. Uvolňování 20-HETE je stimulováno řadou faktorů, jako Ang II, serotoninem, atriálním natriuretickým peptidem, endotelinem-1 (ET-1) a oxidem dusnatým (NO) (McGiff et al., 2001). Stimulace ET-1 receptorů ET_A a ET_B arteriál potkana bylo spojeno s produkcí CYP ω -hydrolázy a následnou vazokonstrikcí vedoucí ke zvýšení krevního tlaku (Hercule et al., 2000). Vysoké koncentrace 20-HETE se navíc objevují v koronárním řečišti během reperfúze, kde aktivují Rho kinázy senzibilizující kontraktilní aparát k Ca^{2+} . 20-HETE pak dále indukují expresi receptoru pro ACE a Ang II (AT_1), čímž dochází ke zvýšení hladin Ang II. To naznačuje komplexní síť

signalizace mezi 20-HETE, ACE, Ang II a RAAS. Tento přímý vliv 20-HETE na regulaci krevního tlaku a rozvoji hypertenze má vliv na funkci srdce (Waldman et al., 2016). 19-HETE oproti 20-HETE dle současných studií nevykazují stejné kardiotoxické účinky (Fan et al., 2016).

EET, DiHETE i HETE při buněčné signalizaci procházejí rychlým buněčným vychytáváním a následně jsou začleněny do buněčných fosfolipidů. Intracelulární rovnováha mezi EET a HETE ovlivňuje biologickou odpověď buňky a nerovnováha těchto dvou kyselin je spojována s řadou patologických stavů a v současné době je významným výzkumným cílem mnoha studií.

3. Úloha metabolitů kyseliny arachidonové v signalizaci srdečního selhání

3.1. Úloha cytochromu P450 epoxigenázy

Rodina CYP enzymů hraje důležitou roli v patofyziologii srdečního selhání, kdy během srdečního selhání dochází ke změnám exprese CYP epoxigenáz. Obecně platí, že hladiny mRNA srdečních CYP1B, CYP2A, CYP2B, CYP2E, CYP4A a CYP2J enzymů jsou během srdečního selhání zvýšeny (Sato et al., 2011). Dále bylo prokázáno, že inhibitory CYP jako chloramfenikol, sulfafenazol nebo cimetidin snižují ischemicko-reperfúzní poškození prostřednictvím tlumení produkce volných kyslíkových radikálů (ROS) těmito cytochromy.

3.2. Buněčná signalizace během srdečního selhání

Srdeční selhání na buněčné úrovni je charakterizováno abnormální homeostázou vápníku, mitochondriální dysfunkcí a přechodným otevíráním mPTP vedoucí ke ztrátě myocytů (Kwong et al., 2015). Změny v dynamice vápníku a jeho zvýšené koncentrace v mitochondriích jsou dány změnou subcelulární architektury sarkoplasmatického retikula (SR) a mitochondrií a také jsou dány sníženou expresí SR Ca^{2+} -ATPázy (SERCA2a), která je odpovědná za přenos vápníku do SR proti vysokému iontovému gradientu. Takto snížena rychlost vychytávání vápníku pak koreluje se snížením nebo nepřítomností frekvence kontraktilní síly myokardu (Beuckelmann et al., 1992). Výsledné změny v koncentraci vápníku během srdečního selhání předurčují mitochondrie kardiomyocytů k otevírání mPTP prostřednictvím Ca^{2+} indukovanou aktivací mitochondriálních fosfolipáz a následné produkci kardiotoxických druhých posílů.

3.3. Mitochondrie

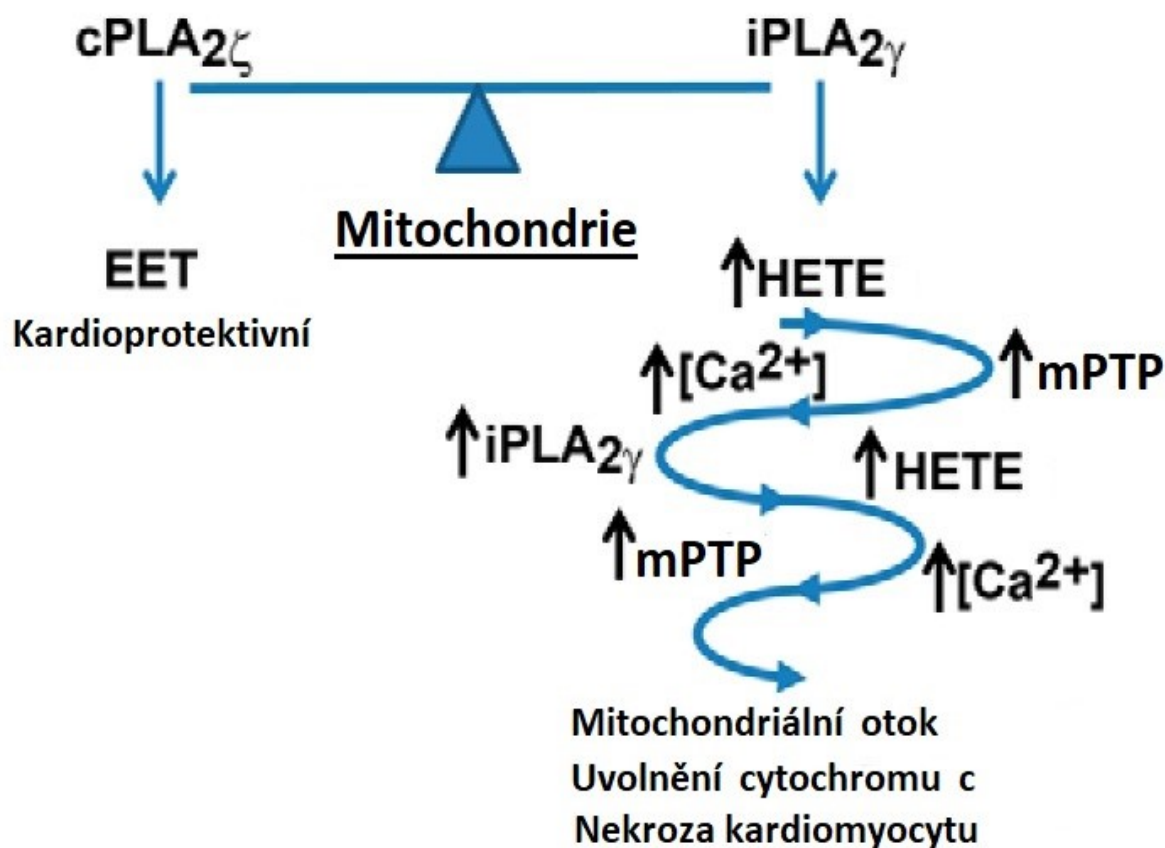
Mitochondrie, které zaujímají až 40% objemu kardiomyocytů (Palmer et al., 1977) a jsou primárním zdrojem energie pro kontraktilní buňky myokardu, regulující homeostázu vápníku a buněčnou smrt (Mercer et al., 2014). Přetížení vápenatými ionty a silný oxidační stres během

ischemicko-reperfúzního poškození vede k otevření mPTP. Otevření mPTP zvyšuje propustnost mitochondriálních membrán pro molekuly o nižší molekulové hmotnosti než 1 500 Da, jejichž akumulace spolu se zvýšeným oxidačním stresem má za následek mitochondriální otok a dysfunkci (Halestrap et al., 2015). Ztráta mitochondriálního membránového potenciálu koreluje s otevíráním mPTP. Experimenty se zvýšenou expresí CYP2J2 a exogenním podáváním EET prokázaly zpomalení otevírání mPTP (Katragadda et al., 2009).

Otevření mPTP navíc aktivuje Ca^{2+} nezávislou fosfolipázu $\text{A}_2\gamma$ (iPLA $_2\gamma$) (Rauckhorst et al., 2015), na rozdíl od převládající aktivity cytosolické fosfolipázy $\text{A}_2\zeta$ (cPLA $_2\zeta$) ve zdravém kardiomyocytu vedoucí ke generování kardioprotektivních EET. Následkem aktivace iPLA $_2\gamma$ dochází k snížení membránového potenciálu mitochondrie, tvorbě toxických metabolitů a uvolnění apoptotických proteinů jako cytochrom c. Ztráta membránového potenciálu pak vede k další aktivaci iPLA $_2\gamma$ (Rauckhorst et al., 2015) a amplifikaci produkce druhých posílů, jako jsou toxické HETE (Obr. 9). Ty pak společně se snížením tvorby kardioprotektivních EET vyvolávají změny povrchového náboje a změny potenciálu mitochondriální membrány (Moon et al., 2018). Navíc, aktivita iPLA $_2\gamma$ vyvazující mastné kyseliny z polohy sn-2 fosfolipidu vede i k uvolnění palmitátu, který je silným aktivátorem otevírání mPTP (Moon et al., 2016). Enzym iPLA $_2\gamma$ má tedy dvě regulační dráhy k otevření mPTP, z nichž každá generuje lipidové signální molekuly. Inhibice aktivity iPLA $_2\gamma$ se tak zdá být vhodným cílem k zabránění progresu srdečního selhání a apoptózy kardiomyocytů.

Zdravé srdce

Selhávající srdce

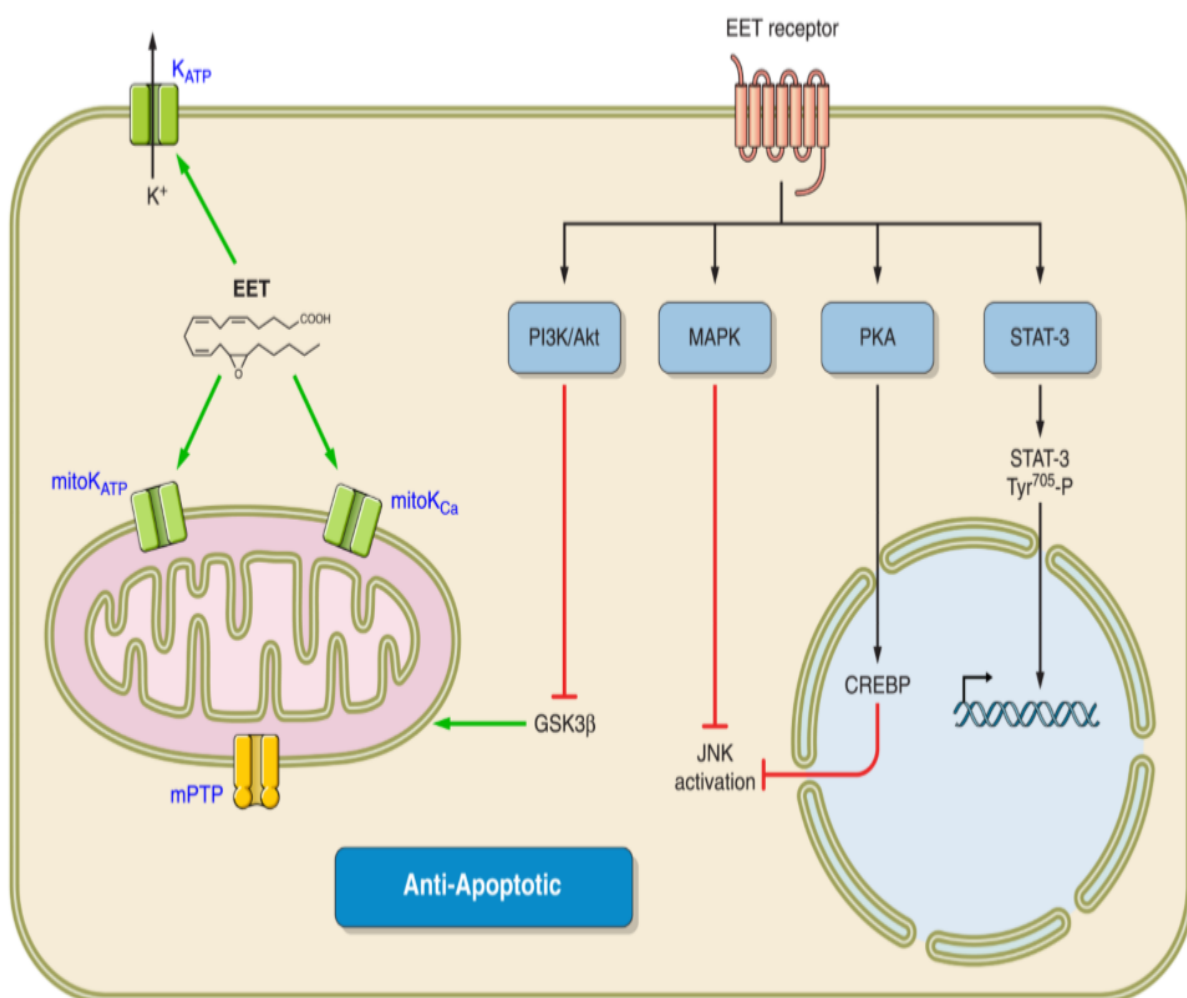


Obrázek 9 : Znáznornění rovnováhy mezi fosfolipázami uvolňující kyselinu arachidonovou z fosfolipidů a určující typ produkovaných eikosanoidů, tím i biologickou odpověď. $cPLA2\zeta$ zdravého myokardu se účastní produkce kardioprotektivních EET, zatím co $iPLA2\gamma$ převládající v selhávajícím srdci se účastní generování HETE napomáhající otevření mitochondriálních pórů (mPTP), zvyšuje hladinu mitochondriálního Ca^{2+} a tím aktivuje další $iPLA2\gamma$ vedoucí ke smrti myocytů. Upraveno dle Wolf et al., 2018.

3.4. EET v selhávajícím srdci

Klíčovou složkou buněčné signalizace selhávajícího srdce regulující ischemicko reperfúzní poškození kardiomyocytu jsou EET a aktivace sarkolemálního K_{ATP} kanálu regulujícího iontovou homeostázu a kontraktilitu srdce (Gumina et al., 2003). Během srdeční ischemie dochází k významnému poklesu poměru ATP/ADP a k aktivaci K_{ATP} kanálů, což vede ke změnám excitability buněk a zkrácení akčního potenciálu (Baczkó et al., 2004). To vede ke snížení buněčného přetížení vápníkem, čímž se sníží i aktivace fosfatáz a kontraktilní dysfunkce. Za regulaci K_{ATP} kanálu je odpovědná jeho podjednotka Kir6.2, přesněji jeho C-terminální doména obsahující překrývající se vazebná místa pro fosfatidylinositolfosfát (PIP)

a EET, snižující citlivost kanálu k ATP (Cukras et al., 2002). EET tak mohou K_{ATP} kanály aktivovat buď přímo vazbou na Kir6.2, nebo nepřímo aktivací fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K) (Obr. 10). PI3K jsou členy rodiny lipidových kináz fosforylující 3'-hydroxylovou skupinu PIP a fosfatidylinositolu-4,5-bisfosfátu (PIP2), za vzniku PIP2 a fosfatidylinositolu-3,4,5-trifosfátu (PIP3), které pak dále aktivují kinázy jako proteinkinázu B (AKT) a glykogensyntázovou kinázu 3 (GSK-3 β) které během ischemicko reperfúzního poškození vedou ke snížení velikosti infarktu inhibicí apoptózy kardiomyocytu (Oudit et al., 2008). Navíc při inhibici transkripčního faktoru STAT-3 dojde ke zrušení kardioprotektivního účinku 14,15-EET, který snižuje velikost infarktu. To dokazuje účast JAK/STAT signální dráhy během protekce apoptózy v souvislosti s EET. Tyto údaje souhrnně naznačují mechanismus kardioprotekce zprostředkované EET prostřednictvím inhibice apoptických drah.



Obrázek 10: Znázornění kardioprotektivních účinků epoxyeikosatrienových kyselin (EET) v selhávajícím srdci aktivací mitochondriálních kanálů aktivovaných ATP (K_{ATP}) a zamezením ztráty membránového potenciálu a otevírání mPTP, nebo inhibicí glykogensyntázy kinázy (GSK-3 β) a JNK aktivace. Převzato z Imig et al., 2012.

3.5. Signalizace HETE v selhávajícím srdci

V přímém kontrastu k účinkům EET jsou pak účinky 12-HETE a 20-HETE indukované hydrolýzou AA pomocí iPLA2 γ . Produkce těchto kyselin je během patologických stavů jako je hypertenze a ischemicko-reperfúzní poškození zvýšena (Nithipatikom et al., 2001). HETE zvyšují mitochondriální koncentrace vápníku a tím přispívají k otevírání mPTP indukované vápníkem a k následné apoptóze (Lv et al., 2008). Experimentální studie naznačily, že podání inhibitorů CYP4A jako např. kyseliny 17-oktadecyionové (17-ODYA) nebo N-methylsulfonyl-12,12-dibromdodeka-11-enamidu (DDMS) výrazně redukuje produkci 20-HETE a zároveň indukci apoptózy po ischemii a reperfúzi (Gross et al., 2004). To je podpořeno studií Hawortha et al., při které bylo inhibitorem LOX braicaleinem zamezeno otevírání mPTP (Haworth et al., 2010). Vysoké koncentrace HETE, dále zvyšují citlivost mitochondrií k vápníkem indukovanému bobtnání mitochondrií. Pozorování myocytů odebraných ze selhávajícího srdce navíc prokázalo, že přidání Ca^{2+} vyvolá velké zvýšení produkce kardiotoxických 5-, 8-, 11-, 12, a 15-HETE a prozánětlivého prostaglandinu PGE_2 spolu s výrazným snížením tvorby kardioprotektivních 14,15-EET a prostacyklinů (Hohlfeld et al., 2000).

Během srdeční hypertrofie vzrůstá produkce 20-HETE, zatím co klesá produkce 19-HETE, což naznačuje úlohu těchto eikosanoidů při rozvoji srdečního selhání (El-Sherbeni et al., 2014). Produkce 19-HETE je přičítána izoformám CYP2E1 (Laethem et al., 1993) a CYP4A (Nguyen et al., 1999). Jejich účinek spočívá v inhibici vazokonstrikce vyvolané 20-HETE (Zhang et al., 2005). Snížení exprese CYP2E1 použitím izoniazidu vedlo k posunu metabolismu od preferovaných CYP metabolitů EET a 20-HETE na 19-HETE (Elkhatali et al., 2015). To také naznačuje kardioprotektivní účinek 19-HETE díky antagonismu k 20-HETE.

3.6. Úloha produktů LOX v selhávajícím srdci

Během srdečního selhání dochází ke zvýšené expresi 12/15-LOX kódované genem Alox15 (Funk et al., 1989). Ačkoliv mechanismus aktivace 12/15-LOX v srdci není dosud plně objasněn, experimentální důkazy naznačují, že ke zvýšené expresi 12/15-LOX dochází po infarktu myokardu (Sano et al., 2007), což naznačuje, že hypoxický stav může být jedním z důvodů indukce 12/15-LOX v srdci. To je v kontrastu s výsledky, kdy hypoxie zvýšila expresi 12/15-LOX v plicích (Zhu et al., 2003). Zvýšená exprese 12/15-LOX pak zvyšuje produkci 12-HETE a 15-HETE stimulující vznik prozánětlivého chemoatraktivního proteinu monocyty (MCP-1), interleukinu-6 a tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF α) (Wen et al., 2008). MCP-1 pak dále indukuje infiltraci makrofágů do srdce, čímž podporuje srdeční fibrózu a systolickou dysfunkci (Kuwahara et al., 2004). Dále bylo prokázáno, že v cévních stěnách

dochází ke zvýšené aktivaci 12/15-LOX, která přispívá ke vzniku aterosklerózy tím, že ovlivňuje uvolňování cholesterolu z makrofágů (Nagelin et al., 2008)

3.7. Úloha prostanoidů v selhávajícím srdci

Prostanoidy se v selhávajícím srdci produkují v reakci na stres. Pravděpodobně nejvíce zkoumaný prostanoid v srdci je PGE₂, kdy během srdeční ischemie dochází k významnému zvýšení jeho hladiny (Hohlfeld et al., 2000). Stejně tak byla v srdci s akutním infarktem myokardu zaznamenána zvýšená exprese receptorů EP4 mRNA (Xiao et al., 2004). Využití agonistů EP4 v experimentálních modelech *in vivo* prokázalo ochranný efekt při ischemii a naopak inaktivace EP4 vedla k progresi hypertrofie a k poškození srdeční funkce (Hishikari et al., 2009). Důkazy naznačují, že účinky EP4 na myocyty jsou kardioprotektivní, zatím co zvýšená exprese těchto receptorů v jiných typech buněk jako jsou makrofágy a fibroblasty podporuje srdeční hypertrofii (Qian et al., 2008). Aktivací EP3 receptoru dochází k inhibici adenylcyclázy a následnému poklesu cAMP (Martin et al., 2005). Tyto účinky snižují ischemické poškození myokardu, avšak dle některých autorů je nadměrná exprese receptoru EP3 spojena s aktivací kalcineurinu a vznikem hypertrofie po ischemii a reperfúzi (Meyer-Kirchrath et al., 2008).

Na rozdíl od EP4 a EP3 je úloha EP1 a EP2 receptorů při signalizaci srdečního selhání málo prozkoumána. Údaje z *in vitro* experimentů naznačují PGE₂ stimulovanou proliferaci fibroblastů prostřednictvím EP avšak přímé důkazy z *in vivo* experimentů, které by dokazovali účast EP1 a EP2 receptorů při srdeční remodelaci stále chybí.

Účinky prostacyklinů během srdečního selhání jsou zatím málo prozkoumány. Kardioprotektivní účinek zprostředkovaný PGI₂/IP signalizací spočívá v PKA-dependentní inhibici Ras/ERK dráhy, tím dochází k omezení hypertrofie fibroblastů a exprese kolagenu, který způsobuje fibrózu (Stratton et al., 2002). To je podpořeno výzkumem Chana a kolektivu, kdy při aktivaci IP cicaprostem došlo k inhibici transformujícím růstovým faktorem β (TGF β) indukované tvorbě kolagenu (Chan et al., 2010).

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout poznatky o působení kyseliny arachidonové a úloze jejích metabolitů v kardiovaskulárním systému a při srdečním selhání. Srdeční selhání je doprovázeno změnou buněčné signalizace vedoucí ke ztrátě myocytů apoptózou. Kyselina arachidonová hraje v této signalizaci klíčovou úlohu, kdy zvýšení intracelulární hladiny vápníku vede v konečném důsledku k vychýlení citlivé rovnováhy mezi jejími bioaktivními metabolity, eikosanoidy, a jejich přesmyku od kardioprotektivních ke kardiotoxickým formám. Zvláštní roli v těchto událostech hrají enzymy rodin iPLA₂ a cPLA₂ uvolňující Arachidonovou kyselinu z fosfolipidů a umožňující generování eikosanoidů cyklooxygenázami, lipoxxygenázami a cytochrom P450 epoxygenázami. Zvýšená exprese epoxygenáz produkujících epoxyeikosatrienové kyseliny vede k jejich silnému kardioprotektivnímu příspěvku, zatím co nadměrná produkce hydroxyeikosatetraenových kyselin v selhávajícím srdci je spojena s otevíráním mPTP a apoptózou kardiomyocytů. V selhávajícím srdci také dochází ke zvýšené expresi receptorů pro prostanoidy podporující progresi srdečního selhávání. Z tohoto hlediska metabolické dráhy kyseliny arachidonové poskytují široké spektrum terapeutických možností pro vývoj selektivních inhibitorů enzymů podílejících se v progresi srdečního selhávání a tím i možnost léčby tohoto závažného onemocnění.

Seznam použité literatury

- Abbate, A., Biondi-Zoccai, G. G. L., Bussani, R., Dobrina, A., Camilot, D., Feroce, F., ... Baldi, A. (2003). Increased myocardial apoptosis in patients with unfavorable left ventricular remodeling and early symptomatic post-infarction heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 41(5), 753–760. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628718>
- Adams, K. F. (2004). Pathophysiologic role of the renn-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure. *American Journal of Health-System Pharmacy : AJHP : Official Journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 61 Suppl 2, S4-13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15160833>
- Ali, F. Y., Egan, K., FitzGerald, G. A., Desvergne, B., Wahli, W., Bishop-Bailey, D., ... Mitchell, J. A. (2006). Role of Prostacyclin versus Peroxisome Proliferator-Activated Receptor β Receptors in Prostacyclin Sensing by Lung Fibroblasts. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 34(2), 242–246. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2005-0289OC>
- Arehart, E., Stitham, J., Asselbergs, F. W., Douville, K., MacKenzie, T., Fetalvero, K. M., ... Hwa, J. (2008). Acceleration of cardiovascular disease by a dysfunctional prostacyclin receptor mutation: potential implications for cyclooxygenase-2 inhibition. *Circulation Research*, 102(8), 986–993. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.165936>
- Baczkó, I., Giles, W. R., & Light, P. E. (2004). Pharmacological activation of plasma-membrane K_{ATP} channels reduces reoxygenation-induced Ca²⁺ overload in cardiac myocytes *via* modulation of the diastolic membrane potential. *British Journal of Pharmacology*, 141(6), 1059–1067. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705702>
- Beuckelmann, D. J., Näbauer, M., & Erdmann, E. (1992). Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circulation*, 85(3), 1046–1055. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.85.3.1046>
- Breitbart, E., Sofer, Y., Shainberg, A., & Grossman, S. (1996). Lipoxygenase activity in heart cells. *FEBS Letters*, 395(2–3), 148–152. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8898083>
- Bushfield, M., L. Hopple, S., Gibson, I., A. Murdoch, F., & MacIntyre, D. E. (1987). *Effects of protein kinase C activation on human platelet cyclic AMP metabolism*. *FEBS letters* (Vol. 222). [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(87\)80390-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(87)80390-3)
- Chan, E. C., Dusting, G. J., Guo, N., Peshavariya, H. M., Taylor, C. J., Dilley, R., ... Jiang, F. (2010). Prostacyclin receptor suppresses cardiac fibrosis: role of CREB phosphorylation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 49(2), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.04.006>
- Chen, R., Zhang, J., Fan, N., Teng, Z.-Q., Wu, Y., Yang, H., ... Chen, C. (2013). Δ^9 -THC-caused synaptic and memory impairments are mediated through COX-2 signaling. *Cell*, 155(5), 1154–1165. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.042>
- Colucci, W. S. (1996). Apoptosis in the Heart. *New England Journal of Medicine*, 335(16), 1224–1226. <https://doi.org/10.1056/NEJM199610173351610>
- Cukras, C. A., Jeliaskova, I., & Nichols, C. G. (2002). Structural and functional determinants of conserved lipid interaction domains of inward rectifying Kir6.2 channels. *The Journal of General Physiology*, 119(6), 581–591. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12034765>
- Dixit, N., & Simon, S. I. (2012). Chemokines, selectins and intracellular calcium flux: temporal and spatial cues for leukocyte arrest. *Frontiers in Immunology*, 3, 188. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00188>
- Dube, P., Weber, K. T., & Weber, K. T. (2011). Congestive heart failure: pathophysiologic

- consequences of neurohormonal activation and the potential for recovery: part I. *The American Journal of the Medical Sciences*, 342(5), 348–351.
<https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e318232750d>
- Eichhorn, E. J., & Bristow, M. R. (1996). Medical therapy can improve the biological properties of the chronically failing heart. A new era in the treatment of heart failure. *Circulation*, 94(9), 2285–2296. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8901684>
- El-Sherbeni, A. A., & El-Kadi, A. O. S. (2014). Alterations in cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolism during pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Biochemical Pharmacology*, 87(3), 456–466. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2013.11.015>
- Elkhatali, S., El-Sherbeni, A. A., Elshenawy, O. H., Abdelhamid, G., & El-Kadi, A. O. S. (2015). 19-Hydroxyecosatetraenoic acid and isoniazid protect against angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 289(3), 550–559.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.10.003>
- Fan, F., Ge, Y., Lv, W., Elliott, M. R., Muroya, Y., Hirata, T., ... Roman, R. J. (2016). Molecular mechanisms and cell signaling of 20-hydroxyecosatetraenoic acid in vascular pathophysiology. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 21, 1427–1463. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27100515>
- Fang, X., Kaduce, T. L., Weintraub, N. L., VanRollins, M., Spector, A. A., Newman, J. W., ... Kroetz, D. L. (1996). Functional implications of a newly characterized pathway of 11,12-epoxyecosatrienoic acid metabolism in arterial smooth muscle. *Circulation Research*, 79(4), 784–793. <https://doi.org/10.1161/01.res.79.4.784>
- Fang, X., Weintraub, N. L., McCaw, R. B., Hu, S., Harmon, S. D., Rice, J. B., ... Spector, A. A. (2004). Effect of soluble epoxide hydrolase inhibition on epoxyecosatrienoic acid metabolism in human blood vessels. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 287(6), H2412–H2420. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00527.2004>
- Fletcher, L., & Thomas, D. (2005). Congestive Heart Failure: Understanding the Pathophysiology and Management. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, 13(6), 249–257.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7599.2001.tb00030.x>
- Frangogiannis, N. G. (2015). Pathophysiology of Myocardial Infarction. In *Comprehensive Physiology* (pp. 1841–1875). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
<https://doi.org/10.1002/cphy.c150006>
- Funk, C. D., & FitzGerald, G. A. (2007). COX-2 Inhibitors and Cardiovascular Risk. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 50(5), 470–479. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318157f72d>
- Funk, C. D., Hoshiko, S., Matsumoto, T., Rdmark, O., & Samuelsson, B. (1989). Characterization of the human 5-lipoxygenase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(8), 2587–2591. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2565035>
- Ghosh, R., Alajbegovic, A., Gomes, A. V., (2015) NSAIDs and Cardiovascular Diseases: Role of Reactive Oxygen Species,” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, ID 536962, 25, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/536962>.
- Gilroy, D. W. (2005). The role of aspirin-triggered lipoxins in the mechanism of action of aspirin. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 73(3–4), 203–210.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2005.05.007>
- Glenn, J. R., White, A. E., Iyu, D., & Heptinstall, S. (2012). PGE₂ reverses G_s-mediated inhibition of platelet aggregation by interaction with EP3 receptors, but adds to non-G_s-mediated inhibition of platelet aggregation by interaction with EP4 receptors. *Platelets*, 23(5), 344–351.
<https://doi.org/10.3109/09537104.2011.625575>

- GROSS, E., Nithipatikom, K., Hsu, A. K., Peart, J. N., Falck, J. R., Campbell, W. B., & Gross, G. J. (2004). Cytochrome P450 ω -hydroxylase inhibition reduces infarct size during reperfusion via the sarcolemmal KATP channel. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 37(6), 1245–1249. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2004.10.008>
- Grosser, T., Fries, S., & FitzGerald, G. A. (2006). Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(1), 4–15. <https://doi.org/10.1172/JCI27291>
- Gumina, R. J., Pucar, D., Bast, P., Hodgson, D. M., Kurtz, C. E., Dzeja, P. P., ... Terzic, A. (2003). Knockout of Kir6.2 negates ischemic preconditioning-induced protection of myocardial energetics. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 284(6), H2106–H2113. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00057.2003>
- Haddy, F. J. (2003). Heart failure - incidence and survival. *The New England Journal of Medicine*, 348(7), 660; author reply 660. <https://doi.org/10.1056/NEJM200302133480717>
- Haeggström, J. Z. (2000). Structure, Function, and Regulation of Leukotriene A₄ Hydrolase. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161(supplement_1), S25–S31. https://doi.org/10.1164/ajrccm.161.supplement_1.lta-6
- Halestrap, A. P., & Richardson, A. P. (2015). The mitochondrial permeability transition: A current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 78, 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.08.018>
- Harizi, H., Corcuff, J. B., Gualde, N. (2008). Arachidonic-acid-derived eicosanoids: role in biology and immunopathology. *Trends in molecular medicine*. 14 (10), 461-9. [10.1016/j.molmed.2008.08.005](https://doi.org/10.1016/j.molmed.2008.08.005)
- Haworth, R. A., Potter, K. T., & Russell, D. C. (2010). Role of arachidonic acid, lipoxygenase, and mitochondrial depolarization in reperfusion arrhythmias. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 299(1), H165-74. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00906.2009>
- Hercule, H. C., & Oyekan, A. O. (2000). Cytochrome P450 omega/omega-1 hydroxylase-derived eicosanoids contribute to endothelin(A) and endothelin(B) receptor-mediated vasoconstriction to endothelin-1 in the rat preglomerular arteriole. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 292(3), 1153–1160. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10688635>
- Hishikari, K., Suzuki, J., Ogawa, M., Isobe, K., Takahashi, T., Onishi, M., ... Isobe, M. (2009). Pharmacological activation of the prostaglandin E2 receptor EP4 improves cardiac function after myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 81(1), 123–132. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn254>
- Hohlfeld, T., Meyer-Kirchrath, J., Vogel, Y.-C., & Schrör, K. (2000). Reduction of Infarct Size by Selective Stimulation of Prostaglandin EP3Receptors in the Reperfused Ischemic Pig Heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 32(2), 285–296. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1999.1072>
- Hughes-Fulford, M., Tjandrawinata, R. R., Li, C.-F., & Sayyah, S. (2005). Arachidonic acid, an omega-6 fatty acid, induces cytoplasmic phospholipase A 2 in prostate carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 26(9), 1520–1526. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi112>
- Jenkins, C. M., Cedars, A., & Gross, R. W. (2009). Eicosanoid signalling pathways in the heart. *Cardiovascular Research*, 82(2), 240–249. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn346>
- Katragadda, D., Batchu, S. N., Cho, W. J., Chaudhary, K. R., Falck, J. R., & Seubert, J. M. (2009). Epoxyeicosatrienoic acids limit damage to mitochondrial function following stress in cardiac cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46(6), 867–875. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.02.028>

- Kayama, Y., Minamino, T., Toko, H., Sakamoto, M., Shimizu, I., Takahashi, H., ... Komuro, I. (2009). Cardiac 12/15 lipoxygenase-induced inflammation is involved in heart failure. *The Journal of Experimental Medicine*, 206(7), 1565–1574. <https://doi.org/10.1084/jem.20082596>
- Kelton, J. G., & Blajchman, M. A. (1980). Prostaglandin I₂ (prostacyclin). *Canadian Medical Association Journal*, 122(2), 175–179. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6988063>
- Kim, S., Park, J. B., O'Rourke, M.F. (2015) Vasculopathy of Aging and the Revised Cardiovascular Continuum. *Pulse (Basel)* 3 (2), 141-147. <https://doi.org/10.1159/000435901>
- Konkel, A., & Schunck, W.-H. (2011). Role of cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1814(1), 210–222. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.09.009>
- Kunapuli, P., Lawson, J. A., Rokach, J. A., Meinkoth, J. L., & FitzGerald, G. A. (1998). Prostaglandin F₂α (PGF₂α) and the isoprostane, 8, 12-iso-isoprostane F₂α-III, induce cardiomyocyte hypertrophy. Differential activation of downstream signaling pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22442–22452. <https://doi.org/10.1074/JBC.273.35.22442>
- Kuwahara, F., Kai, H., Tokuda, K., Takeya, M., Takeshita, A., Egashira, K., & Imaizumi, T. (2004). Hypertensive Myocardial Fibrosis and Diastolic Dysfunction: Another Model of Inflammation? *Hypertension*, 43(4), 739–745. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000118584.33350.7d>
- Kwong, J. Q., & Molkentin, J. D. (2015). Physiological and Pathological Roles of the Mitochondrial Permeability Transition Pore in the Heart. *Cell Metabolism*, 21(2), 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.001>
- Laethem, R. M., Balazy, M., Falck, J. R., Laethem, C. L., & Koop, D. R. (1993). Formation of 19(S)-, 19(R)-, and 18(R)-hydroxyecosatetraenoic acids by alcohol-inducible cytochrome P450 2E1. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(17), 12912–12918. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8509425>
- Larsen, B. T., Gutterman, D. D., & Hatoum, O. A. (2006). Emerging role of epoxyecosatrienoic acids in coronary vascular function. *European Journal of Clinical Investigation*, 36(5), 293–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2006.01634.x>
- Larsen, B. T., Miura, H., Hatoum, O. A., Campbell, W. B., Hammock, B. D., Zeldin, D. C., ... Gutterman, D. D. (2006). Epoxyecosatrienoic and dihydroxyecosatrienoic acids dilate human coronary arterioles via BK(Ca) channels: implications for soluble epoxide hydrolase inhibition. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 290(2), H491-9. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00927.2005>
- Li, P. L., & Campbell, W. B. (1997). Epoxyecosatrienoic acids activate K⁺ channels in coronary smooth muscle through a guanine nucleotide binding protein. *Circulation Research*, 80(6), 877–884. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9168791>
- Li, P. L., Zou, A. P., & Campbell, W. B. (1997). Regulation of potassium channels in coronary arterial smooth muscle by endothelium-derived vasodilators. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 29(1 Pt 2), 262–267. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9039112>
- Liu, B., Luo, W., Zhang, Y., Li, H., Zhu, N., Huang, D., & Zhou, Y. (2012). Involvement of cyclooxygenase-1-mediated prostacyclin synthesis in the vasoconstrictor activity evoked by ACh in mouse arteries. *Experimental Physiology*, 97(2), 277–289. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.062034>
- Lu, T., Ye, D., Wang, X., Seubert, J. M., Graves, J. P., Bradbury, J. A., ... Lee, H.-C. (2006). Cardiac and vascular K_{ATP} channels in rats are activated by endogenous epoxyecosatrienoic acids through different mechanisms. *The Journal of Physiology*, 575(2), 627–644.

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.113985>

- Lv, X., Wan, J., Yang, J., Cheng, H., Li, Y., Ao, Y., & Peng, R. (2008). Cytochrome P450 ω -hydroxylase inhibition reduces cardiomyocyte apoptosis via activation of ERK1/2 signaling in rat myocardial ischemia-reperfusion. *European Journal of Pharmacology*, 596(1–3), 118–126. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2008.08.008>
- Martin, M., Meyer-Kirchrath, J., Kaber, G., Jacoby, C., Flögel, U., Schrader, J., ... Hohlfeld, T. (2005). Cardiospecific Overexpression of the Prostaglandin EP3 Receptor Attenuates Ischemia-Induced Myocardial Injury. *Circulation*, 112(3), 400–406. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.508333>
- McGiff, J. C., & Quilley, J. (2001). 20-hydroxyeicosatetraenoic acid and epoxyeicosatrienoic acids and blood pressure. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 10(2), 231–237. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11224699>
- Mercer, J. R. (2014). Mitochondrial bioenergetics and therapeutic intervention in cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 141(1), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.07.011>
- Meyer-Kirchrath, J., Martin, M., Schooss, C., Jacoby, C., Flögel, U., Marzoll, A., ... Hohlfeld, T. (2008). Overexpression of prostaglandin EP3 receptors activates calcineurin and promotes hypertrophy in the murine heart. *Cardiovascular Research*, 81(2), 310–318. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn312>
- Mitchell, J. A., Kirby, N. S. (2018) Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *British journal of pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.14167>
- Moon, S. H., Liu, X., Cedars, A. M., Yang, K., Kiebish, M. A., Joseph, S. M., ... Gross, R. W. (2018). Heart failure-induced activation of phospholipase iPLA2 γ generates hydroxyeicosatetraenoic acids opening the mitochondrial permeability transition pore. *Journal of Biological Chemistry*, 293(1), 115–129. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000405>
- Moon, S. H., Mancuso, D. J., Sims, H. F., Liu, X., Nguyen, A. L., Yang, K., ... Gross, R. W. (2016). Cardiac myocyte-specific knock-out of calcium-independent phospholipase a2 γ (ipla2 γ) decreases oxidized fatty acids during ischemia/reperfusion and reduces infarct size. *Journal of Biological Chemistry*, 291(37), 19687–19700. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.740597>
- Nagelin, M. H., Srinivasan, S., Lee, J., Nadler, J. L., & Hedrick, C. C. (2008). 12/15-Lipoxygenase activity increases the degradation of macrophage ATP-binding cassette transporter G1. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(10), 1811–1819. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.167908>
- Nguyen, X., Wang, M.-H., Reddy, K. M., Falck, J. R., & Schwartzman, M. L. (1999). Kinetic profile of the rat CYP4A isoforms: arachidonic acid metabolism and isoform-specific inhibitors. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 276(6), R1691–R1700. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.6.R1691>
- Nigam, S., Fiore, S., Luscinskas, F. W., & Serhan, C. N. (1990). Lipoxin A4 and lipoxin B4 stimulate the release but not the oxygenation of arachidonic acid in human neutrophils: Dissociation between lipid remodeling and adhesion. *Journal of Cellular Physiology*, 143(3), 512–523. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041430316>
- Nithipatikom, K., DiCamelli, R. F., Kohler, S., Gumina, R. J., Falck, J. R., Campbell, W. B., & Gross, G. J. (2001). Determination of Cytochrome P450 Metabolites of Arachidonic Acid in Coronary Venous Plasma during Ischemia and Reperfusion in Dogs. *Analytical Biochemistry*, 292(1), 115–124. <https://doi.org/10.1006/ABIO.2001.5044>
- Nithipatikom, K., Isbell, M. A., Lindholm, P. F., Kajdacsy-Balla, A., Kaul, S., & Campbell, W. B. (2002). Requirement of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandins for human prostate

- cancer cell invasion. *Clinical & Experimental Metastasis*, 19(7), 593–601. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12498388>
- Oudit, G. Y., & Penninger, J. M. (2008). Cardiac regulation by phosphoinositide 3-kinases and PTEN. *Cardiovascular Research*, 82(2), 250–260. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp014>
- Pace-Asciak, C. R. (1994). Hepoxilins: a review on their cellular actions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1215(1–2), 1–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7947989>
- Palmer, W. (1977). Biochemical Interfibrillar Muscle*. *Biological Chemistry*, 236(2), 8731–8739.
- Petrucci, G., De Cristofaro, R., Rutella, S., Ranelletti, F. O., Pocaterra, D., Lancellotti, S., ... Rocca, B. (2011). Prostaglandin E2 Differentially Modulates Human Platelet Function through the Prostanoid EP2 and EP3 Receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336(2), 391–402. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.174821>
- Pitt, B., Williams, G., Remme, W., Martinez, F., Lopez-Sendon, J., Zannad, F., ... Kleiman, J. (2001). The EPHESUS trial: eplerenone in patients with heart failure due to systolic dysfunction complicating acute myocardial infarction. Eplerenone Post-AMI Heart Failure Efficacy and Survival Study. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 15(1), 79–87. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11504167>
- Pradono, P., Tazawa, R., Maemondo, M., Tanaka, M., Usui, K., Saijo, Y., ... Nukiwa, T. (2002). *Gene Transfer of Thromboxane A2 Synthase and Prostaglandin I2 Synthase Antithetically Altered Tumor Angiogenesis and Tumor Growth*. *Cancer research* (Vol. 62).
- Qian, J.-Y., Harding, P., Liu, Y., Shesely, E., Yang, X.-P., & LaPointe, M. C. (2008). Reduced Cardiac Remodeling and Function in Cardiac-Specific EP4 Receptor Knockout Mice With Myocardial Infarction. *Hypertension*, 51(2), 560–566. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.102590>
- Rauckhorst, A. J., Pfeiffer, D. R., & Broekemeier, K. M. (2015). The iPLA 2 c is identified as the membrane potential sensitive phospholipase in liver mitochondria. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.07.016>
- Reed, G. W., Rossi, J. E., & Cannon, C. P. (2017). Acute myocardial infarction. *The Lancet*, 389(10065), 197–210. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30677-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30677-8)
- Rogers, C., & Bush, N. (2015). Heart Failure. *Nursing Clinics of North America*, 50(4), 787–799. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2015.07.012>
- Roman, R. J. (2002). P-450 Metabolites of Arachidonic Acid in the Control of Cardiovascular Function. *Physiological Reviews*, 82(1), 131–185. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2001>
- Sano, M., Minamino, T., Toko, H., Miyauchi, H., Orimo, M., Qin, Y., ... Komuro, I. (2007). p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature*, 446(7134), 444–448. <https://doi.org/10.1038/nature05602>
- Sato, M., Yokoyama, U., Fujita, T., Okumura, S., & Ishikawa, Y. (2011). The Roles of Cytochrome P450 in Ischemic Heart Disease. *Current Drug Metabolism*, 12(6), 526–532. <https://doi.org/10.2174/138920011795713715>
- Scott, J. (2004). Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 14(3), 271–279. <https://doi.org/10.1016/J.GDE.2004.04.012>
- Serhan, C. N., & Chiang, N. (2002). Lipid-Derived Mediators in Endogenous Anti-Inflammation and Resolution: Lipoxins and Aspirin-Triggered 15-epi-Lipoxins. *The Scientific World JOURNAL*, 2, 169–204. <https://doi.org/10.1100/tsw.2002.81>
- Serhan, C. N., Takano, T., Gronert, K., Chiang, N., & Clish, C. B. (1999). Lipoxin and Aspirin-Triggered 15-epi-Lipoxin Cellular Interactions Anti-Inflammatory Lipid Mediators. *Clinical*

- Chemistry and Laboratory Medicine*, 37(3), 299–309. <https://doi.org/10.1515/CCLM.1999.052>
- Shabb, J. B. (2001). Physiological Substrates of cAMP-Dependent Protein Kinase. <https://doi.org/10.1021/CR000236L>
- Smith, J. B., & Willis, A. L. (1971). Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature: New Biology*, 231(25), 235–237. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5284361>
- Smyth, E. M. (2010). Thromboxane and the thromboxane receptor in cardiovascular disease. *Clinical Lipidology*, 5(2), 209–219. <https://doi.org/10.2217/clp.10.11>
- Spector, A. A., Fang, X., Snyder, G. D., & Weintraub, N. L. (2004). Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Progress in Lipid Research*, 43(1), 55–90. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14636671>
- Steinhilber, D., Fischer, A.F., Metzner, J., Steinbrink, S. D., ... Mainer, T. J., (2010). 5-Lipoxygenase : Underappreciated Role of a Pro-Inflammatory Enzyme in Tumorigenesis. *Front Pharmacol*, 143 (1), 2010, <https://doi.org/10.3389/fphar.2010.00143>
- Stenson, W. F., & Parker, C. W. (1979). Metabolism of arachidonic acid in ionophore-stimulated neutrophils. Esterification of a hydroxylated metabolite into phospholipids. *The Journal of Clinical Investigation*, 64(5), 1457–1465. <https://doi.org/10.1172/JCI109604>
- Stratton, R., Rajkumar, V., Ponticos, M., Nichols, B., Shiwen, X., Black, C. M., ... Leask, A. (2002). Prostacyclin derivatives prevent the fibrotic response to TGF- β by inhibiting the Ras/MEK/ERK pathway. *The FASEB Journal*, 16(14), 1949–1951. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0204fje>
- Sugimoto, Y., & Narumiya, S. (2007). Prostaglandin E Receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 282(16), 11613–11617. <https://doi.org/10.1074/jbc.R600038200>
- Unger, T. (2002). The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *The American Journal of Cardiology*, 89(2A), 3A–9A; discussion 10A. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11835903>
- Vane, J. R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature: New Biology*, 231(25), 232–235. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5284360>
- Waldman, M., Peterson, S. J., Arad, M., & Hochhauser, E. (2016). The role of 20-HETE in cardiovascular diseases and its risk factors. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 125, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2016.05.007>
- Wang, D., Borrego-Conde, L. J., Falck, J. R., Sharma, K. K., Wilcox, C. S., & Umans, J. G. (2003). Contributions of nitric oxide, EDHF, and EETs to endothelium-dependent relaxation in renal afferent arterioles. *Kidney International*, 63(6), 2187–2193. <https://doi.org/10.1046/J.1523-1755.2003.00036.X>
- Watanabe, H., Vriens, J., Prenen, J., Droogmans, G., Voets, T., & Nilius, B. (2003). Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. *Nature*, 424(6947), 434–438. <https://doi.org/10.1038/nature01807>
- Wen, Y., Gu, J., Vandenhoff, G. E., Liu, X., & Nadler, J. L. (2008). Role of 12/15-lipoxygenase in the expression of MCP-1 in mouse macrophages. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294, 1933–1938. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00260.2007>
- Widstrom, R. L., Norris, A. W., Van Der Veer, J., & Spector, A. A. (2003). Fatty acid-binding proteins inhibit hydration of epoxyeicosatrienoic acids by soluble epoxide hydrolase. *Biochemistry*, 42(40), 11762–11767. <https://doi.org/10.1021/bi034971d>
- Wolf, M. J. (2018). “HETE”ing up mitochondria in human heart failure. *Journal of Biological*

Chemistry. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.
<https://doi.org/10.1074/jbc.H117.001021>

- Xiao, C.-Y., Yuhki, K., Hara, A., Fujino, T., Kuriyama, S., Yamada, T., ... Ushikubi, F. (2004). Prostaglandin E2 Protects the Heart From Ischemia-Reperfusion Injury via Its Receptor Subtype EP4. *Circulation*, 109(20), 2462–2468. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000128046.54681.97>
- Yamamoto, S. (1992). Mammalian lipoxygenases: molecular structures and functions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1128(2–3), 117–131. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1420284>
- Yang, W., Gauthier, K. M., Reddy, L. M., Sangras, B., Sharma, K. K., Nithipatikom, K., ... Campbell, W. B. (2005). Stable 5,6-Epoxyeicosatrienoic Acid Analog Relaxes Coronary Arteries Through Potassium Channel Activation. *Hypertension*, 45(4), 681–686. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000153790.12735.f9>
- Yang, G., Chen, L., (2016). An Update of Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 and PGE₂ Receptors in Cardiovascular Health and Diseases,” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, ID 5249086, 9, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5249086>.
- Yu, Y., Ricciotti, E., Scalia, R., Tang, S. Y., Grant, G., Yu, Z., ... FitzGerald, G. A. (2012). Vascular COX-2 Modulates Blood Pressure and Thrombosis in Mice. *Science Translational Medicine*, 4(132), 132ra54–132ra54. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003787>
- Zeldin, D. C., Kobayashi, J., Falck, J. R., Winder, B. S., Hammock, B. D., Snapper, J. R., & Capdevila, J. H. (1993). Regio- and enantiofacial selectivity of epoxyeicosatrienoic acid hydration by cytosolic epoxide hydrolase. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(9), 6402–6407. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8454612>
- Zemřelí 2015 | ÚZIS ČR. (n.d.). , from <http://www.uzis.cz/node/7688>
- Zhang, L., Ding, H., Yan, J., Hui, R., Wang, W., Kissling, G. E., ... Wang, D. W. (2008). Genetic variation in cytochrome P450 2J2 and soluble epoxide hydrolase and risk of ischemic stroke in a Chinese population. *Pharmacogenetics and Genomics*, 18(1), 45–51. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f313e8>
- Zhang, Y., El-Sikhry, H., Chaudhary, K. R., Batchu, S. N., Shayeganpour, A., Jukar, T. O., ... Seubert, J. M. (2009). Overexpression of CYP2J2 provides protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 297(1), H37–H46. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00983.2008>
- Zhang, Z., Vezza, R., Plappert, T., McNamara, P., Lawson, J. A., Austin, S., ... FitzGerald, G. A. (2003). COX-2-dependent cardiac failure in Gh/tTG transgenic mice. *Circulation Research*, 92(10), 1153–1161. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000071749.22027.45>
- Zhu, D., Medhora, M., Campbell, W. B., Spitzbarth, N., Baker, J. E., & Jacobs, E. R. (2003). Chronic hypoxia activates lung 15-lipoxygenase, which catalyzes production of 15-HETE and enhances constriction in neonatal rabbit pulmonary arteries. *Circulation Research*, 92(9), 992–1000. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000070881.65194.8F>
- Zidar, N., Odar, K., Glavac, D., Jerse, M., Zupanc, T., & Stajer, D. (2009). Cyclooxygenase in normal human tissues--is COX-1 really a constitutive isoform, and COX-2 an inducible isoform? *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(9B), 3753–3763. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00430.x>